

Propuesta de protocolo para el informe histológico del tumor primario de los pacientes con un melanoma cutáneo del Grupo de Trabajo para el Melanoma Cutáneo de la Comunidad Valenciana

E. Nagore^a, C. Monteagudo^b, M. I. Pinazo^c, R. Botella-Estrada^a, V. Oliver^d, J. Bañuls^e, M. Moragón^f, F. Valcuende^g, A. Calatrava^h, M.J. Mayol-Beldaⁱ, R. Lázaro^j, M. Niveiro^k y C. Guillén^a

^aServicio de Dermatología. Instituto Valenciano de Oncología. Valencia. España. ^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic Universitari. Valencia. España. ^cServicio de Dermatología. Hospital Clínic Universitari. Valencia. España. ^dServicio de Dermatología. Consorcio Hospital General Universitario. Valencia. España. ^eServicio de Dermatología. Hospital General Universitario. Alicante. España. ^fServicio de Dermatología. Hospital Universitario San Juan. Alicante. España. ^gServicio de Dermatología. Hospital de la Plana. Villarreal. España. ^hServicio de Dermatología. Instituto Valenciano de Oncología. Valencia. España. ⁱServicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario San Juan. Alicante. España. ^jServicio de Anatomía Patológica. Hospital de la Plana. Villarreal. España. ^kServicio de Anatomía Patológica. Hospital General Universitario. Alicante. España.

En este texto se describe una propuesta de protocolo histológico para el melanoma cutáneo realizado de forma consensuada por el Grupo de Trabajo para el Melanoma Cutáneo de la Comunidad Valenciana. En él se recoge el propio protocolo y, además, incluye la descripción de cada una de las variables propuestas que ha demostrado tener un mayor impacto en el pronóstico en los trabajos previos.

Palabras clave: melanoma, histología, protocolo.

PROTOCOL PROPOSAL FOR THE HISTOLOGICAL REPORT OF THE PRIMARY TUMOR IN PATIENTS WITH CUTANEOUS MELANOMA FROM THE TASK FORCE FOR CUTANEOUS MELANOMA OF THE VALENCIAN COMMUNITY

Abstract. This text compiles a histological protocol proposal for cutaneous melanoma agreed by the Task Force for Cutaneous Melanoma of the Valencian Community. It brings together the protocol itself and, in addition, includes a description of each of the proposed variables that has shown to have a greater prognostic impact in previous works.

Key words: melanoma, histology, protocol.

Introducción

El pronóstico de un paciente con un melanoma cutáneo no es uniforme y depende de multitud de factores. Se conocen algunos de estos factores gracias a los cuales se han establecido los diferentes grupos de riesgo (estadios) en los que se puede encuadrar un paciente determinado y que nos ayudan a establecer cuál va a ser la actitud clínica (diagnóstica y terapéutica) más adecuada. De entre los factores conocidos, las características histológicas del tumor primario son

en la actualidad unos elementos pronósticos cruciales en el establecimiento de estos grupos de riesgo.

Clark et al¹ reconocieron por primera vez la importancia del área anatómica invadida por el tumor para el pronóstico de un melanoma y establecieron lo que hoy se conoce como niveles de invasión o niveles Clark. Posteriormente, en 1970, Breslow² describió la utilización de un micrómetro ocular para medir de manera específica el espesor del tumor primario. Estos dos parámetros fueron durante mucho tiempo las variables pronósticas disponibles más utilizadas entre los patólogos para la predicción del comportamiento biológico del melanoma.

A lo largo de las últimas dos o tres décadas, un gran número de trabajos han confirmado con total claridad que el espesor tumoral, o índice de Breslow², es el factor pronóstico histológico más relevante para los pacientes con un melanoma cutáneo localizado³⁻⁸, es decir, para aquellos en los que no existan pruebas de su diseminación linfática o

Correspondencia:
Eduardo Nagore.
Servicio de Dermatología.
Instituto Valenciano de Oncología.
Profesor Beltrán Bágüena, 8.
46009 Valencia.
Correo electrónico: eduyame@meditex.es

Aceptado el 5 de mayo de 2007.

hemática (estadios I y II del último sistema de estadificación recomendado por el AJCC [*American Joint Committee on Cancer*] en el año 2001⁹). Sin embargo, es un hecho conocido que un porcentaje variable de pacientes contravienen el desenlace predicho. Por esta razón, todos los expertos en la materia persiguen el establecimiento de nuevos modelos pronósticos que permitan un mejor conocimiento del comportamiento biológico del melanoma cutáneo. Con esta finalidad, diferentes grupos de trabajo han realizado múltiples estudios en los que se han definido varias características histológicas que parecen tener un valor pronóstico adicional^{4-8,10-35}. De hecho, en el trabajo anteriormente citado, en el que figuraba la propuesta de estadificación actualmente vigente⁹, se animaba a continuar en el proceso de estudio de otras variables histológicas no incluidas en el sistema. Entre ellas destacan la fase de crecimiento del tumor, el subtipo histológico, la presencia de ulceración, de satelitosis microscópica y de invasión vascular, la caracterización del infiltrado inflamatorio, la actividad mitótica, el tipo de células predominante o la presencia de regresión.

Un elemento importante, que se debe tener en cuenta, es que la gran mayoría de estudios realizados hasta la fecha buscan modelos a partir de parámetros clínicos e histológicos que sean fácilmente reproducibles. Por esta razón, los parámetros histológicos más estudiados son aquellos que pueden evaluarse sobre la pieza tumoral procesada en parafina y teñida con hematoxilina y eosina. Dichos parámetros incluyen juicios realizados por humanos que, por lo tanto, están sujetos a errores en su medida. La medida de este error se puede evaluar mediante la determinación del índice de fiabilidad, que mide el nivel de concordancia interobservador. Se han realizado diferentes estudios que han medido esta variabilidad interobservador y que justifican, al menos en parte, algunos resultados dispares que se pueden encontrar en la literatura^{36,37}. Así, por ejemplo, se ha podido constatar que la medición del espesor tumoral tiene una baja variabilidad interobservador, al igual que la valoración de la ulceración^{36,37} o, más recientemente la determinación del índice mitótico³⁶.

Otro de los problemas que ha determinado la amplia variabilidad de resultados entre los trabajos es que algunas de las variables asocian una importante carga de subjetividad en su interpretación, como ocurre por ejemplo en la valoración del infiltrado inflamatorio o en el tipo histológico, y que se traduce en una gran variabilidad interobservador^{36,37}. Además, en algunos trabajos se puede constatar una ausencia de definiciones precisas de las variables que permita su comparación^{15,24}.

Es posible que en un futuro, a medio o largo plazo, el uso de técnicas de biología molecular ayude a precisar el comportamiento biológico de un determinado tumor y permita una mayor individualización del tratamiento de cada paciente con melanoma. Sin embargo, la actual co-

yuntura asistencial dista mucho de alcanzar esos objetivos. Por ello, parece necesario mantener la recogida de datos histológicos obtenidos tras el procesamiento habitual de la pieza tumoral en parafina y la tinción con hematoxilina y eosina. Aunque existen múltiples protocolos histológicos y la mayoría de ellos incluyen variables más o menos similares, no existe unanimidad en todos ellos en la forma en que deben ser recogidas todas las variables. En este artículo se pretende proponer un protocolo para la recogida de variables histológicas del tumor primario y definir cada una de ellas de acuerdo con los criterios más precisos y reproducibles que se hayan utilizado hasta la fecha.

Protocolo histológico

En la tabla 1 se recoge el modelo propuesto de protocolo histológico. Además de los datos de filiación, es importante detallar la localización y el tipo de muestra sobre la que se realiza el informe histológico (biopsia excisional, incisional, en sacabocados y por rebanado). Es una práctica habitual en la mayoría de los centros de referencia solicitar la pieza original (el bloque y las laminillas), o al menos una muestra representativa (una o varias laminillas), para aquellos casos referidos con el fin de completar el tratamiento o realizar el seguimiento. Por ello, es importante aclarar en el informe cuál ha sido el material disponible para realizar el diagnóstico, pues en algún caso puede limitar el valor de dicho documento.

A continuación se detallan las definiciones y algunos comentarios sobre las variables recogidas en dicho protocolo.

1. Melanoma *in situ*/invasor. Se considera melanoma *in situ* aquel que está confinado a la epidermis y que, por lo tanto, no atraviesa la membrana basal epidérmica.
2. Tipo histológico. Se distinguen 4 subtipos histológicos principales: el melanoma de extensión superficial, el lentigo maligno/melanoma sobre lentigo maligno (o lentigo maligno melanoma), el melanoma lentiginoso acral y el melanoma nodular^{1,38,39}. Estas 4 variedades se diferencian por la presencia o la ausencia (melanoma nodular) de una fase de crecimiento radial y, en caso de su existencia, del tipo de componente intraepidérmico^{39,40}. Este último puede ser pagetoide (melanoma de extensión superficial), o lentiginoso (lentigo maligno y el melanoma sobre lentigo maligno, cuando afecta la piel fotoexpuesta, melanoma lentiginoso acral si afecta las palmas o las plantas y el melanoma de mucosas).

Se han descrito otras variantes menos frecuentes, y por lo tanto menos estudiadas, cuyo valor pronóstico es más incierto. Cabe destacar entre ellas al melanoma desmoplásico^{39,41}. Esta variedad puede presentarse con o sin un componente intraepitelial. Histológicamente

está compuesto por células fusiformes, aisladas, en fascículos o agregadas en nidos, incluidas en un estroma desmoplásico. Una clave diagnóstica es la presencia de fascículos de células en los cuales los núcleos, de aspecto fusiforme, se organizan de forma paralela unos a otros, muy juntos entre sí, de manera que el patrón que conforman es una imagen «en espina de pescado». Esta variedad asocia neurotropismo en un 50 % de los casos.

Además están descritas otras formas de melanoma como son el melanoma spitzoide, el melanoma animal y el melanoma sobre nevo azul, entre otras³⁹.

3. Fase de crecimiento. Se distinguen dos fases: la de crecimiento radial y la de crecimiento vertical²¹. La diferencia fundamental entre ambas radica en la capacidad de proliferación («tumorigenicidad», según una traducción casi literal del término inglés) en la dermis de las células tumorales. Así, se considera que están en la fase de crecimiento radial aquellos melanomas que tienen sólo un componente intraepidérmico (melanoma *in situ*) y los que tienen células tumorales en la dermis, bien aisladas, bien formando nidos, siempre de menor tamaño que aquellos que se encuentren en la epidermis, y entre las que no se observan mitosis (melanoma en fase de crecimiento radial microinvasor). Por el contrario, la fase de crecimiento vertical incluye aquellos melanomas con células tumorales en la dermis en las que se puede observar alguna mitosis o que forman nidos de mayor tamaño que los que se encuentran en la epidermis.

La fase de crecimiento radial (sin distinción entre si tiene o no células dérmicas) tiene una supervivencia cercana al 100 % a los 8 años^{7,23,42}. Además, los melanomas en esta fase no presentan metástasis en el ganglio centinela²⁷, por lo que podría servir como un criterio de exclusión de pacientes susceptibles de la realización de dicha técnica.

Es importante mencionar que la variabilidad entre los observadores es moderada, por lo que se requiere un cierto grado de experiencia o aprendizaje previo, tras lo cual se obtienen niveles de concordancia similares al del espesor tumoral de Breslow⁴³.

4. Espesor tumoral de Breslow. Desde su definición por Breslow en 1970², este parámetro ha permanecido inalterado a lo largo del tiempo. Es una medición cuantitativa del grado de invasión del tumor de la dermis que debe realizarse con un ocular con micrómetro calibrado. Mide el espesor, expresado en milímetros, desde la capa más superficial de la capa granulosa, en perpendicular desde la superficie epidérmica, hasta el punto más profundo de invasión de la masa tumoral en la dermis. Se excluye la invasión de la dermis adventicial salvo que éste sea el único punto de invasión dérmica. En este supuesto debe

Tabla 1. Protocolo de informes histológicos

(*): depende del microscopio pero se acepta el recuento sobre 5 campos a 400 aumentos.

medirse desde la superficie interna de la luz del conducto o glándula ecrina o de la luz o la cara interna del epitelio de la vaina radicular externa del folículo piloso. En caso de que el tumor esté ulcerado se mide desde la base de la úlcera.

En futuros estudios deberá aclararse cómo se debe realizar la medición en aquellos casos en los que el tumor primario sea puramente dérmico⁴⁴ (si el llamado melanoma dérmico llega a considerarse como una entidad bien diferenciada de forma definitiva), si se debe medir desde la granulosa o si lo que se debe considerar es el diámetro vertical del tumor.

5. Nivel de invasión de Clark. A pesar de que su influencia parece únicamente relevante para los casos de menos de 1 mm de espesor, se recomienda recoger este dato en todos los casos ante la posibilidad de que se redescubra su valor en circunstancias especiales.

Los niveles de invasión de Clark^{1,38} se definen de la siguiente forma:

- Nivel I. Los melanocitos malignos se encuentran confinados a la epidermis (melanoma *in situ*).
- Nivel II. Se observa una infiltración parcial de la dermis papilar por melanocitos aislados o agrupados en pequeños nidos.
- Nivel III. Las células tumorales llenan y expanden la dermis papilar, con extensión del tumor a la zona de interfase entre la dermis papilar y la reticular, lo que se puede identificar con el uso rutinario de un polarizador y un condensador para aprovechar los patrones de birrefringencia del colágeno dérmico (las fibras de colágeno de la dermis papilar se orientan de forma vertical mientras que las de la dermis reticular tienen una orientación horizontal). En este nivel se pueden observar células aisladas en la dermis reticular superficial, pero su crecimiento no es infiltrante. Merece la pena recalcar que los melanomas polipoides tienen, al menos, un nivel III de infiltración.
- Nivel IV. Las células del melanoma infiltran la dermis reticular de forma significativa.
- Nivel V. Las células del melanoma infiltran el tejido celular subcutáneo.

6. Ulceración histológica. La ulceración histológica sólo se considera cuando existe una pérdida del espesor total de la epidermis⁷. El primer punto importante es no considerar como ulceración la pérdida de la epidermis como consecuencia de un artefacto en el procesamiento de la muestra histológica. Esto suele ser fácilmente distinguible, dado que hay una ausencia total de fibrina o de tejido de granulación³⁶. La segunda distinción clave es entre la ulceración traumática y la no traumática. Para esta distinción los datos clínicos son fundamentales (una biopsia previa, la presencia de una

cicatriz o el antecedente traumático), en caso contrario puede llegar a ser imposible, aunque la presencia de unos márgenes epidérmicos cortados de forma abrupta y cuadrada, o la presencia de tejido de granulación subyacente con forma de «V» también sugieren un origen traumático³⁶. Algunos autores han definido dos posibles tipos de ulceración debida al tumor: infiltrativa (erosiva) y compresiva³⁶. La infiltrativa es debida a la invasión de la epidermis por parte de las células tumorales, que acaban rompiendo las uniones intercelulares y ulcerando la epidermis. La segunda, compresiva, tiende a ocurrir en lesiones nodulares que comprimen la epidermis adelgazándola hasta el punto de ulcerarla finalmente. Aunque el significado pronóstico es incierto, dado que el mecanismo etiopatogénico parece diferente, podría ser razonable incluir la diferencia en un informe histológico prospectivo. Finalmente, se recomienda medir la anchura de la ulceración, puesto que algunos autores han observado que podría tener un valor pronóstico (sobre todo si tiene más de 3 mm)⁴⁵. Para algunos autores, si se estableciera un valor mínimo para el tamaño de la anchura de la ulceración, por ejemplo los 3 mm mencionados, se podría disminuir al máximo el problema que representa, en ocasiones, la valoración de un pequeño foco de ulceración³⁶.

7. Índice mitótico (número de mitosis por mm²). Dado que este es un parámetro que parece haber adquirido de nuevo un protagonismo relevante en los últimos años, parece razonable definirlo con la máxima precisión posible. El método recomendado para la medición del índice mitótico es el siguiente: la sección completa se evalúa para determinar el área dérmica del tumor en el que parece haber una mayor cantidad de mitosis. El número de mitosis se cuenta en un área de 1 mm² (aproximadamente 5 campos de gran aumento en un microscopio a 400 ×). El recuento de mitosis se comienza en el área donde se ha observado que hay un mayor número de mitosis y se determina contando en campos sucesivos (según las recomendaciones del «1982 International Pathology Workshop»^{36,40}). Con este método, por lo tanto, se obtiene un número entero de mitosis por mm². Los campos pueden incluir una mezcla de células tumorales y de estroma. Si no hay suficientes campos se requiere el examen de niveles sucesivos. Aunque ya se ha comentado anteriormente, merece la pena recordar que este sistema se propuso como una revisión del presentado en el «1972 Sydney Classification of Malignant Melanoma» en el que se evaluaban al menos 10 campos de gran aumento sobre toda la lesión y se expresaban como el número de mitosis por 5 campos de gran aumento⁴⁰. La propuesta vino originada por el error potencial de medida asociado a las características ópticas

de los diferentes microscopios. La comparación entre ambos métodos ha demostrado que el nuevo sistema mejora su capacidad pronóstica⁵ y, además, mejora el índice de fiabilidad y disminuye por tanto la variabilidad interobservador^{36,37}.

8. Regresión histológica tumoral. La regresión se caracteriza por la ausencia de células de melanoma en una región focal de la fase de crecimiento radial adyacente a la fase de crecimiento vertical, a menudo flanqueado por uno o ambos lados por el tumor. La epidermis se suele encontrar adelgazada fundamentalmente por una desestructuración del patrón de crestas epidérmicas. En la dermis subyacente se observa un ensanchamiento de la dermis papilar con un aumento de las fibras de colágeno paralelo a la superficie de la epidermis (fibroplasia no laminada), junto con un infiltrado linfocitario difuso poco intenso, la presencia de melanófagos en la dermis papilar y un grado de edema variable. Se encuentran telangiectasias que típicamente adquieren una orientación perpendicular a la epidermis^{18,38}. Este parámetro histológico parece tener especial relevancia, pues empeora el pronóstico en los tumores de espesor delgado, sobre todo si está presente en grado extenso (afecta a más del 75 % del tumor)⁴⁶⁻⁴⁸. En nuestro protocolo, con la clara intención de simplificar la recogida de datos, se clasifica la presencia de regresión sólo en mayor o menor del 50%.
9. Infiltrado inflamatorio. El infiltrado linfocitario asociado al tumor (*tumor infiltrating lymphocytes* [TIL], de la literatura anglosajona: los linfocitos que infiltran el tumor) se clasifica como intenso si existe bien un infiltrado difuso de linfocitos que acapara toda la fase de crecimiento vertical del tumor, bien si se encuentran linfocitos que infiltran al menos un 90 % de la circunferencia de la base tumoral. Se define como no intenso si el infiltrado es focal, y ausente cuando no hay linfocitos entremezclados con las células tumorales, incluso aunque se puedan observar de forma perivascular dentro o fuera de la masa tumoral^{18,38}. Parece interesante también reflejar si hay presencia de células plasmáticas, puesto que, aunque es un hecho infrecuente, se ha constatado su valor pronóstico negativo en un trabajo previo⁴⁹.
10. Invasión vascular. Se define como la presencia inequívoca de células tumorales en el interior de luces vasculares (linfáticas o sanguíneas) y adheridas al endotelio^{10,26}. Aunque algunos autores utilizan marcadores inmunohistoquímicos (*Ulex europaeus*, CD31 o CD34) para su valoración, no parece demostrarse un aumento de la frecuencia de este fenómeno respecto de su evaluación con hematoxilina y eosina²⁶ por lo que, probablemente, se deberían reservar para situaciones muy dudosas. Recientemente, se ha propuesto incluir como invasión vascular la presencia de células tumorales que se encuentran adheridas al exterior de la pared del vaso, sin estroma de separación²⁶. Los autores justifican este hecho dado que el empeoramiento del pronóstico observado es similar a la presencia de lo que se podría denominar «verdadera invasión vascular». Aunque en la presente propuesta de protocolo no está reflejado este hecho, podría ser interesante confirmar su valor pronóstico en futuros estudios.
11. Infiltración perineural (neurotropismo). Con este término se incluye la presencia de células de melanoma que infiltran el perineuro y/o el endoneuro de los nervios. Esta infiltración puede ser difícil de detectar en algunas ocasiones en las que se pueden encontrar sólo algunos núcleos hiper cromáticos en el área perineural que se encuentra engrosada por una fibrosis y pueden requerirse técnicas inmunohistoquímicas (HMB-45, S-100, MART-1) para determinar su naturaleza neoplásica³⁹.
12. Satelitosis microscópica. Se define de manera estricta por la presencia de nidos de células tumorales bien definidos y separados de la masa tumoral (de la fase de crecimiento vertical) por una capa de colágeno o por tejido celular subcutáneo de al menos 0,05 mm (medidos con un micrómetro ocular)^{19,50,51}. No se consideran como tales la presencia de células tumorales sueltas o células tumorales separadas sólo por estroma tumoral. Es importante no considerar las satelitosis microscópicas en la medición del espesor tumoral de Breslow o en el nivel de invasión de Clark⁵¹.
13. Lesión melanocítica asociada. Se ha observado en algún estudio que la presencia de un nevo melanocítico asociado al melanoma confiere un mejor pronóstico⁵², aunque no es un hecho corroborado^{10,11,14}. Aunque la mayoría de los casos (43 %) van a ser nevos melanocíticos displásicos, también se pueden encontrar nevos melanocíticos comunes, melanocíticos congénitos, spilus o azules.
14. Tipo celular predominante. Es interesante recoger el tipo de células predominantes en la fase de crecimiento vertical. Se distinguen entre células epitelioides, y su variante nevoide, y fusocelulares. Otros tipos son menos frecuentes como las células globoides (del inglés *balloon*). Aunque muchos estudios han mostrado una ausencia de correlación entre el tipo celular, este aspecto no ha sido estudiado de forma sistemática y algunos autores han observado que los tumores que están formados por células fusocelulares bien diferenciadas parecen asociar un mejor pronóstico³⁹.
15. Elastosis actínica en la dermis de la piel sana peritumoral. Este parámetro se ha incluido porque, aunque estrictamente este no es un factor pronóstico demostrado, su presencia o ausencia parece determinar un patrón de alteraciones genéticas que podrían tener algún tipo de repercusión en el tratamiento del paciente⁵³.

16. ¿Es completa la resección del melanoma? La información sobre la afectación de los márgenes es imprescindible en cualquier informe.

Conflicto de intereses

Declaramos no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Clark WH Jr., From L, Bernardino EA, Mihm MC. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res.* 1969;29:705-27.
2. Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg.* 1970;172:902-8.
3. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, Thompson JF, Reintgen DS, Cascinelli N, et al. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol.* 2001;19:3622-34.
4. Vollmer RT. Malignant melanoma. A multivariate analysis of prognostic factors. *Pathol Annu.* 1989;24 Pt 1:383-407.
5. Azzola MF, Shaw HM, Thompson JF, Soong SJ, Scolyer RA, Watson GF, et al. Tumor mitotic rate is a more powerful prognostic indicator than ulceration in patients with primary cutaneous melanoma: an analysis of 3,661 patients from a single center. *Cancer.* 2003;97:1488-98.
6. Worth AJ, Gallagher RP, Elwood JM, Yang PC, Lamb C, Spinelli JJ, et al. Pathologic prognostic factors for cutaneous malignant melanoma: the Western Canada Melanoma Study. *Int J Cancer.* 1989;43:370-5.
7. Barnhill RL, Fine JA, Roush GC, Berwick M. Predicting five-year outcome for patients with cutaneous melanoma in a population-based study. *Cancer.* 1996;78:427-32.
8. Ostmeier H, Fuchs B, Otto F, Mawick R, Lippold A, Krieg V, et al. Can immunohistochemical markers and mitotic rate improve prognostic precision in patients with primary melanoma? *Cancer.* 1999;85:2391-9.
9. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, et al. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* 2001;19:3635-48.
10. Thorn M, Ponten F, Bergstrom R, Sparen P, Adami HO. Clinical and histopathologic predictors of survival in patients with malignant melanoma: a population-based study in Sweden. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86:761-9.
11. Masback A, Olsson H, Westerdahl J, Ingvar C, Jonsson N. Prognostic factors in invasive cutaneous malignant melanoma: a population-based study and review. *Melanoma Res.* 2001;11:435-45.
12. Averbook BJ, Fu P, Rao JS, Mansour EG. A long-term analysis of 1,018 patients with melanoma by classic Cox regression and tree-structured survival analysis at a major referral center: Implications on the future of cancer staging. *Surgery.* 2002;132:589-602; discussion 602-4.
13. Levi F, Randimbison L, La Vecchia C, Te VC, Franceschi S. Prognostic factors for cutaneous malignant melanoma in Vaud, Switzerland. *Int J Cancer.* 1998;78:315-9.
14. MacKie RM, Aitchison T, Sirel JM, McLaren K, Watt DC. Prognostic models for subgroups of melanoma patients from the Scottish Melanoma Group database 1979-86, and their subsequent validation. *Br J Cancer.* 1995;71:173-6.
15. Balch CM, Soong SJ, Murad TM, Ingalls AL, Maddox WA. A multifactorial analysis of melanoma. II. Prognostic factors in patients with stage I (localized) melanoma. *Surgery.* 1979;86:343-51.
16. Barth A, Wanek LA, Morton DL. Prognostic factors in 1,521 melanoma patients with distant metastases. *J Am Coll Surg.* 1995;181:193-201.
17. Blois MS, Sagebiel RW, Abarbanel RM, Caldwell TM, Tuttle MS. Malignant melanoma of the skin. I. The association of tumor depth and type, and patient sex, age, and site with survival. *Cancer.* 1983;52:1330-41.
18. Clemente CG, Mihm MC Jr., Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer.* 1996;77:1303-10.
19. Day CL Jr, Harrist TJ, Gorstein F, Sober AJ, Lew RA, Friedman RJ, et al. Malignant melanoma. Prognostic significance of «microscopic satellites» in the reticular dermis and subcutaneous fat. *Ann Surg.* 1981;194:108-12.
20. Drzewiecki KT, Frydman H, Andersen K, Poulsen H, Ladefoged C, Vibe P. Malignant melanoma. Changing trends in factors influencing metastasis-free survival from 1964 to 1982. *Cancer.* 1990;65:362-6.
21. Elder D. Tumor progression, early diagnosis and prognosis of melanoma. *Acta Oncol.* 1999;38:535-47.
22. Francken AB, Shaw HM, Thompson JF, Soong SJ, Accortt NA, Azzola MF, et al. The prognostic importance of tumor mitotic rate confirmed in 1,317 patients with primary cutaneous melanoma and long follow-up. *Ann Surg Oncol.* 2004;11:426-33.
23. Guerry DT, Synnestvedt M, Elder DE, Schultz D. Lessons from tumor progression: the invasive radial growth phase of melanoma is common, incapable of metastasis, and indolent. *J Invest Dermatol.* 1993;100:342S-5S.
24. Harrist TJ, Rigel DS, Day CL Jr., Sober AJ, Lew RA, Rhodes AR, et al. «Microscopic satellites» are more highly associated with regional lymph node metastases than is primary melanoma thickness. *Cancer.* 1984;53:2183-7.
25. Hsueh EC, Lucci A, Qi K, Morton DL. Survival of patients with melanoma of the lower extremity decreases with distance from the trunk. *Cancer.* 1999;85:383-8.
26. Kashani-Sabet M, Sagebiel RW, Ferreira CM, Nosrati M, Miller JR, 3rd. Vascular involvement in the prognosis of primary cutaneous melanoma. *Arch Dermatol.* 2001;137:1169-73.
27. Kesmodel SB, Karakousis GC, Botbyl JD, Canter RJ, Lewis RT, Wahl PM, et al. Mitotic rate as a predictor of sentinel lymph node positivity in patients with thin melanomas. *Ann Surg Oncol.* 2005;12:449-58.
28. Leon P, Daly JM, Synnestvedt M, Schultz DJ, Elder DE, Clark WH Jr. The prognostic implications of microscopic satellites in patients with clinical stage I melanoma. *Arch Surg.* 1991;126:1461-8.
29. McGovern VJ, Shaw HM, Milton GW, Farago GA. Lymphocytic infiltration and survival in malignant melanoma. En: Ackerman AB, editor. *Pathology of malignant melanoma.* New York: Masson Publishing; 1981. p. 341.

30. McGovern VJ, Shaw HM, Milton GW. Prognosis in patients with thin malignant melanoma: influence of regression. *Histopathology*. 1983;7:673-80.
31. Schmoeckel C, Bockelbrink A, Bockelbrink H, Koutsis J, Braun-Falco O. Low- and high-risk malignant melanoma-I. Evaluation of clinical and histological prognosticators in 585 cases. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1983;19:227-35.
32. Stadelmann WK, Rapaport DP, Soong SJ, Reintgen DS, Buzaid AC, Balch CM. Prognostic clinical and pathologic features. En: Balch CM, Houghton A Jr., Sober AJ, Soong SJ, editors. *Cutaneous melanoma*. St. Louis, MO: Quality Medical Publishing, Inc; 1998. p. 11-36.
33. Vossaert KA, Silverman MK, Kopf AW, Bart RS, Rigel DS, Friedman RJ, et al. Influence of gender on survival in patients with stage I malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 1992;26:429-40.
34. Nagore E, Oliver V, Botella-Estrada R, Moreno-Picot S, Insa A, Fortea JM. Prognostic factors in localized invasive cutaneous melanoma: high value of mitotic rate, vascular invasion and microscopic satellitosis. *Melanoma Res*. 2005;15:169-77.
35. Nagore Enguidanos E, Oliver Martínez V, Botella Estrada R, Insa Molla A, Fortea Baixauli JM. Factores pronósticos en el melanoma maligno cutáneo localizado: estudio de 639 pacientes. *Med Clin (Barc)*. 2005;124:361-7.
36. Scolyer RA, Shaw HM, Thompson JF, Li LX, Colman MH, Lo SK, et al. Interobserver reproducibility of histopathologic prognostic variables in primary cutaneous melanomas. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:1571-6.
37. Heenan PJ, Matz LR, Blackwell JB, Kelsall GR, Singh A, Ten Seldam RE, et al. Inter-observer variation between pathologists in the classification of cutaneous malignant melanoma in western Australia. *Histopathology*. 1984;8:717-29.
38. Crowson AN, Magro CM, Mihm MC. Prognosticators of melanoma, the melanoma report, and the sentinel lymph node. *Mod Pathol*. 2006;19 Suppl 2:S71-87.
39. Barnhill RL, Mihm MC Jr. Histopathology and precursor lesions. En: Balch CM, Houghton AN, Sober A, Soong SJ, editors. *Cutaneous melanoma*. St. Louis, MO: Quality Medical Publishing, Inc; 1998. p. 103-33.
40. McGovern VJ, Cochran AJ, Van der Esch EP, Little JH, MacLennan R. The classification of malignant melanoma, its histological reporting and registration: a revision of the 1972 Sydney classification. *Pathology*. 1986;18:12-21.
41. McCarthy SW, Crotty KA, Scolyer RA. Desmoplastic melanoma and desmoplastic neurotropic melanoma. En: LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A, editors. *Pathology and genetics of skin tumours*. Lyon: IARC Press; 2006. p. 76-8.
42. Barnhill RL, Katzen J, Spatz A, Fine J, Berwick M. The importance of mitotic rate as a prognostic factor for localized cutaneous melanoma. *J Cutan Pathol*. 2005;32:268-73.
43. McDermott NC, Hayes DP, al-Sader MH, Hogan JM, Walsh CB, Kay EW, et al. Identification of vertical growth phase in malignant melanoma. A study of interobserver agreement. *Am J Clin Pathol*. 1998;110:753-7.
44. Swetter SM, Ecker PM, Johnson DL, Harvell JD. Primary dermal melanoma: a distinct subtype of melanoma. *Arch Dermatol*. 2004;140:99-103.
45. Day CL Jr, Mihm MC Jr, Lew RA, Harris MN, Kopf AW, Fitzpatrick TB, et al. Prognostic factors for patients with clinical stage I melanoma of intermediate thickness (1.51 - 3.39 mm). A conceptual model for tumor growth and metastasis. *Ann Surg*. 1982;195:35-43.
46. Guitart J, Lowe L, Piepkorn M, Prieto VG, Rabkin MS, Ronan SG, et al. Histological characteristics of metastasizing thin melanomas: a case-control study of 43 cases. *Arch Dermatol*. 2002;138:603-8.
47. Ronan SG, Eng AM, Briele HA, Shioura NN, Das Gupta TK. Thin malignant melanomas with regression and metastases. *Arch Dermatol*. 1987;123:1326-30.
48. Sondergaard K, Hou-Jensen K. Partial regression in thin primary cutaneous malignant melanomas clinical stage I. A study of 486 cases. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1985;408:241-7.
49. Mascaró JM, Molgo M, Castel T, Castro J. Plasma cells within the infiltrate of primary cutaneous malignant melanoma of the skin. A confirmation of its histoprognotic value. *Am J Dermatopathol*. 1987;9:497-9.
50. Kelly JW, Sagebiel RW, Calderon W, Murillo L, Dakin RL, Blois MS. The frequency of local recurrence and microsatellites as a guide to reexcision margins for cutaneous malignant melanoma. *Ann Surg*. 1984;200:759-63.
51. Shaikh L, Sagebiel RW, Ferreira CM, Nosrati M, Miller JR 3rd, Kashani-Sabet M. The role of microsatellites as a prognostic factor in primary malignant melanoma. *Arch Dermatol*. 2005;141:739-42.
52. Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW, Lieblich L, Lew R, Harris MN, et al. Favorable prognosis for malignant melanomas associated with acquired melanocytic nevi. *Arch Dermatol*. 1983;119:455-62.
53. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med*. 2005;353:2135-47.