



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA [Q 大]
Facultat de Medicina i Odontologia

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Programa de doctorado 3139 de Medicina

**Impacto de la apnea del sueño en la evolución del
melanoma cutáneo maligno: análisis de
biomarcadores pronósticos**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

José Daniel Gómez Olivas

Dirigida por:

Dr. Miguel Ángel Martínez García

Dr. Alfredo De Diego Damiá

Tutor

Dr. Alfredo De Diego Damiá

Valencia, 2 de Julio de 2025



VNIVERSITAT
E VALÈNCIA [ò 人]
Facultat de Medicina i Odontologia

Dr. MIGUEL ÁNGEL MARTÍNEZ GARCÍA, Doctor en Medicina, Jefe de Sección del Servicio de Neumología y coordinador de la Unidad de Patología del Sueño del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia).

Dr. ALFREDO DE DIEGO DAMIÁ, Doctor en Medicina, Jefe de Área del Tórax. Servicio de Neumología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia).

CERTIFICAN:

Que la presente Tesis Doctoral titulada **"IMPACTO DE LA APNEA DEL SUEÑO EN LA EVOLUCIÓN DEL MELANOMA CUTÁNEO MALIGNO: ANÁLISIS DE BIOMARCADORES PRONÓSTICOS"** ha sido realizada bajo su dirección por **José Daniel Gómez Olivas**, Graduado en Medicina.

Y para que así conste a todos los efectos, se extiende la presente certificación en Valencia a 2 de Julio de 2025.

Dr. M.A. Martínez García

Dr. A. De Diego Damiá

A mis dos niñas.

A mis padres, abuela y a mi hermana.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y abuela, José, Ana y Consuelo, porque tanto sin la educación que me han dado como la que me han permitido obtener de otros entornos jamás hubiera llegado a estar donde estoy actualmente. Y también por todos los valores que me han transmitido y el apoyo que me han entregado siempre que lo he necesitado.

A mi esposa Sarai. Por la paciencia mostrada en todos los momentos en los que estado ausente para llevar a cabo esta Tesis Doctoral y por siempre mostrar su apoyo pese a todas las vivencias a las que nos ha hecho renunciar este trabajo.

Al Dr. Alfredo De Diego Damiá, tutor de la presente Tesis Doctoral, por su rápida predisposición a ser el tutor desde el primer momento en el que se lo solicité, así como por su disponibilidad.

A la Dra. Carolina Cubillos Zapata y al Doctor y Profesor Francisco García Río por toda la ayuda recibida por su parte y por el trabajo desinteresado que han dedicado a esta Tesis.

Pero, especialmente, a uno de los directores de esta Tesis, el Dr. Miguel Ángel Martínez García. Tanto porque sin sus aportaciones jamás hubiera sido posible este trabajo como por todo el tiempo invertido en esta Tesis Doctoral. Pero, sobre todo, por el apoyo constante mostrado desde el primer momento en el que comenzó este proyecto, pues incluso en momentos en los que cualquier otra persona se hubiera echado a un lado él continuó mostrando su predisposición a colaborar en todo lo que fuera preciso y preocupándose de que ningún contratiempo hiciera que se detuviera el avance en el desarrollo del trabajo. Sinceramente, GRACIAS.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	6
ÍNDICE GENERAL.....	8
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	15
I. INTRODUCCIÓN.....	19
1.1 Apnea obstructiva del sueño.....	21
1.2 Melanoma.....	28
1.3 Apnea obstructiva del sueño y cáncer.....	33
1.4 Apnea obstructiva del sueño y melanoma.....	59
II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	73
III. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	77
IV. OJETIVOS DEL ESTUDIO.....	81
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	85
5.1 Tipo de estudio.....	87
5.2 Población a estudio.....	87
5.2.1 Criterios de inclusión.....	87
5.2.2 Criterios de exclusión.....	87
5.3 Datos basales.....	88
5.3.1 Valoración/anamnesis.....	88
5.3.2 Pruebas complementarias.....	89

5.3.2.1 Estudio de sueño.....	89
5.3.2.2 Análisis bioquímicos. Justificación y procedimiento.....	90
5.3.2.2.1 Justificación.....	90
5.3.2.2.2 Procedimiento.....	92
5.4 Variable de análisis final del estudio (outcome final).....	94
5.4.1 Muerte.....	94
5.4.2 Recidiva.....	94
5.4.3 Metástasis.....	95
5.4.4 Variable compuesta.....	95
5.5. Análisis estadístico.....	95
VI. RESULTADOS.....	99
6.1 Descripción de la muestra.....	101
6.2 Características basales de la muestra.....	101
6.2.1 Datos generales.....	102
6.2.2. Características comparativas de los datos basales de los grupos a estudio.....	107
6.2.3. Análisis comparativo entre el grupo con y sin eventos.....	114
6.2.4. Análisis multivariado.....	118
6.2.5. Construcción del Score clínico-biológico.....	120
VII. DISCUSION.....	125
7.1 Características basales clínicas según grupos de AOS.....	128
7.2 Características basales clínicas según la variable compuesta resultado.....	131

7.3 Variables de seguimiento.....	132
7.4 Análisis univariado de biomarcadores.....	133
7.5 Análisis multivariado.....	144
7.6 Construcción del score multidimensional.....	147
7.7 Fortalezas del estudio.....	150
7.8 Limitaciones del estudio.....	151
7.9 Retos futuros.....	152
7.10 Aplicabilidad clínica.....	154
VIII. CONCLUSIONES.....	157
IX. BIBLIOGRAFIA.....	161
X. ANEXOS.....	179
10.1 Hoja de recogida de datos de pacientes.....	181
10.2 Publicaciones derivadas de la Tesis Doctoral.....	184

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fisiopatología de la apnea obstructiva del sueño.....	23
Tabla 2. Factores de riesgo de apnea obstructiva del sueño.....	26
Tabla 3. Fototipos cutáneos.....	30
Tabla 4. Estadificación de melanoma exclusivamente por índice de Breslow....	32
Tabla 5. Factor de crecimiento endotelial vascular en humanos.....	35
Tabla 6. Estudios más importantes sobre la asociación entre la hipoxia y el cáncer, excluyendo melanoma.....	39
Tabla 7. Hipoxia intermitente y cáncer, modelos de apnea obstructiva del sueño excluyendo melanoma.....	42
Tabla 8. Relación entre apnea del sueño y cáncer, estudios observacionales en humanos.....	54
Tabla 9. Principales estudios que muestran la relación entre la hipoxia intermitente y melanoma.....	66
Tabla 10. Características generales de los pacientes.....	102
Tabla 11. Características basales del melanoma cutáneo maligno.....	103
Tabla 12. Características del sueño.....	104
Tabla 13. Resultados analíticos.....	105
Tabla 14. Descripción de eventos.....	106
Tabla 15. Características de seguimiento de los pacientes.....	106
Tabla 16. Características basales de los cuatro grupos estudiados.....	108
Tabla 17. Características del melanoma por grupos estudiados.....	109
Tabla 18. Características del sueño por grupos estudiados.....	110

Tabla 19. Resultados analíticos por grupos estudiados.....	111
Tabla 20. Descripción de eventos por grupos estudiados.....	112
Tabla 21. Características de seguimiento de los cuatro grupos estudiados.....	113
Tabla 22. Comparación de características basales en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte).....	114
Tabla 23. Características del melanoma en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte).....	115
Tabla 24. Características del sueño en el grupo con y sin la variable de resultado compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte).....	116
Tabla 25. Resultados analíticos en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte).....	117
Tabla 26. Comparación de características al seguimiento en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte).....	118
Tabla 27. Análisis de Cox. Variables asociadas de forma independiente con la variable compuesta final.....	119
Tabla 28. Análisis de Cox. Variables asociadas de forma independiente con la variable compuesta final tras dicotomización de las variables cuantitativas.....	120
Tabla 29. Score clínico-biológico pronóstico.....	121
Tabla 30. Valores de cada componente individual del score y del score final...	122

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatología de la apnea obstructiva del sueño.....	22
Figura 2. Prevalencia de apnea obstructiva del sueño a nivel mundial.....	25
Figura 3. Tratamiento con presión positiva continua en la vía aérea (CPAP)....	27
Figura 4. Tasas relativas de supervivencia del melanoma cutáneo según SEER a 5 años, 2011-2017, por estadio al momento del diagnóstico y sexo.....	29
Figura 5. Número de publicaciones sobre sobre la relación fisiopatológica existe entre la hipoxia intermitente y el cáncer.....	33
Figura 6. Hipoxia y cáncer.....	37
Figura 7. Niveles de biomarcadores en pacientes de riesgo para cáncer de pulmón.....	52
Figura 8. Hipoxia intermitente y crecimiento melanoma, modelo murino.....	60
Figura 9. Hipoxia intermitente y metástasis pulmonares en melanoma.....	61
Figura 10. Descripción de la muestra y división en grupos en base a resultados de estudio de sueño y tratamiento.....	101
Figura 11. Curvas ROC de los valores de cada componente individual del score y del score final.....	122
Figura 12. División por terciles de los valores del score y capacidad pronóstica de los mismos.....	123

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

AOS: apnea obstructiva del sueño

CMC: células madre cancerosas

CO₂: dióxido de carbono

COX: ciclooxigenasa

CPAP: presión positiva continua en la vía aérea

CT90%: porcentaje total de tiempo del registro en el que la saturación se encuentra por debajo del 90%

FC: frecuencia cardiaca

FiO₂: concentración de oxígeno en mezcla de aire inspirado

GLC: ganglio linfático centinela

HCLO: ácido hipocloroso

HI: hipoxia intermitente

HIF-1 alfa: subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia

HLEC: células endoteliales linfáticas humanas

HR: hazard ratio

i.p.: intraperitoneales

IAH: índice de apnea/hipopnea

ICAM: molécula de adhesión intracelular

ID3%: índice de desaturación al 3%

ID4%: índice de desaturación al 4%

IL: interleukina

MDK: midkina

MEC: matriz extracelular

MIA: molécula de inhibición del melanoma

micro-RNA: microácido ribonucleico

MIP-2: proteína inflamatoria de macrófago 2

mm: milímetros.

MMP2: metaloproteinasa de matriz 2

mPGES1: prostaglandina E2 sintasa 1 microsomal

NF-Kb: factor nuclear Kappa B

NPS: nódulo pulmonar solitario

NRF2: factor nuclear tipo eritroide 2

O₂: oxígeno

O₂⁻: superóxido

ODI: índice de desaturación de oxígeno

OH: hidroxilo

OR: odds ratio

P53: proteína 53.

PCNA: antígeno nuclear de células en proliferación

PD-1: Proteína de muerte celular programada 1

PD-L1: ligando 1 de muerte celular programada

pG: prostaglandina

PIGF: factor de crecimiento placentario.

pMEL 17 RNA: ácido ribonucleico de la proteína premelanosómica 17

PSPC1: componente paraspeckle-1

ROS: especies reactivas de oxígeno

sPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada

TEM: transición epitelio-mesenquimal

TGF β -1: factor de crecimiento transformante β 1

TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa

TRS: trastornos respiratorios del sueño

VAS: vía aérea superior

VCAM1: molécula de adhesión celular vascular 1

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

I. INTRODUCCIÓN

1.1 APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO

La apnea obstructiva del sueño (AOS) se caracteriza por la presencia de repetidos episodios de obstrucción al flujo aéreo de la vía superior durante el sueño que pueden ser totales o parciales como consecuencia del colapso faríngeo.

Esta disminución del calibre de la vía aérea superior conlleva a una menor entrada de aire en la vía respiratoria inferior y, por tanto, a alteración en el intercambio gaseoso a nivel pulmonar, siendo la desaturación durante la noche el signo clínico de más fácil detección. Es por este motivo por el que los signos directos de la enfermedad únicamente se manifiestan durante la noche, siendo necesario un diagnóstico durante el sueño mediante dispositivos capaces de detectar, como mínimo, la saturación nocturna de manera continua, el flujo de aire en vía aérea superior y el movimiento de tórax y abdomen.

En base a estos datos, tal y como se explica a continuación, se pueden detectar episodios denominados apneas e hipopneas, siendo el diagnóstico cuando el sumatorio de ambas dividido entre horas totales de sueño (índice de apnea/hipopnea) es mayor a 5 eventos por hora (1).

- Apnea: Disminución del flujo de aire mayor a un 90% durante un mínimo de 10 segundos. Una vez establecido el criterio de apnea será considerada como apnea obstructiva si durante su detección persiste esfuerzo torácico o abdominal por parte del paciente ya que de no presentarlo debe valorarse si reducción de la señal respiratoria es debida a ausencia de esfuerzo por parte del paciente por causa neurológica central.

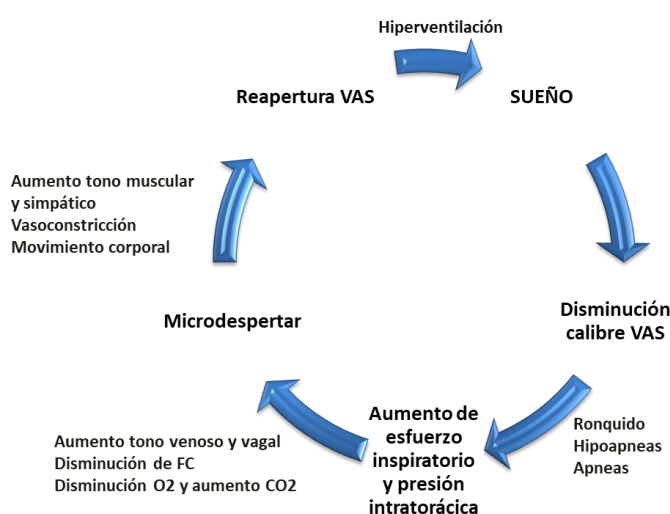
- Hipopnea: Disminución de la amplitud de la señal respiratoria entre un 30 y un 90% durante un mínimo de 10 segundos, acompañada de desaturación de al menos 3 puntos en el pulsioxímetro o de microdespertar en el caso de disponer de registro electroencefálico. El considerar la hipopnea de origen obstructivo se rige por el mismo criterio que en caso de la apnea (ausencia de esfuerzo torácico o abdominal).

Ya para finalizar el aspecto diagnóstico de la apnea obstructiva del sueño, cabe reseñarse que el IAH también se utiliza para establecer la gravedad –de necesario conocimiento para la toma de decisiones terapéuticas aunque no se profundizará al respecto en este documento pues no es la finalidad del mismo– según los siguientes intervalos:

- AOS leve: cuando el IAH se encuentra entre 5 y 14.9/h.
- AOS moderada: cuando el IAH se encuentra entre 15 y 29.9/h.
- AOS grave: cuando el IAH es de 30/h o superior.

Como se ha indicado con anterioridad, la limitación reiterada al flujo aéreo se traduce en una desaturación de oxígeno intermitente; pero también en hipercapnia intermitente, desestructuración del sueño y cambios en presión intratorácica de lo que se derivan – por medio de una serie de mecanismos fisiopatológicos intermedios tales como activación del sistema nervioso simpático, disfunción del endotelio vascular, estrés oxidativo, inflamación generalizada y alteraciones a nivel metabólico - las diferentes consecuencias tanto a nivel neuropsiquiátrico como cardiorrespiratorio y metabólico (**Figura 1** y **Tabla 1**).

Figura 1. Fisiopatología de la apnea obstructiva del sueño



VAS: vía aérea superior, FC: frecuencia cardíaca, O2: oxígeno, CO2: dióxido de carbono

Tabla 1. Fisiopatología de la apnea obstructiva del sueño

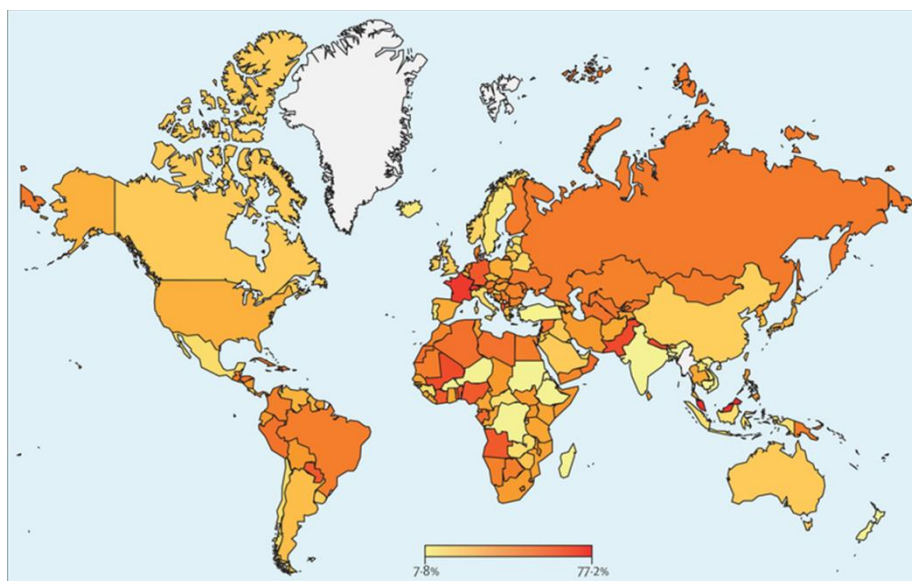
Trastorno fisiopatológico	Principal manifestación clínica
Sueño fragmentado (microdespertares) - Trastornos neuropsiquiátricos - Hipersonmnia diurna	- Depresión - Irritabilidad - Problemas de concentración - Deficiencia en coordinación de movimientos
Trastornos del intercambio gaseoso a nivel pulmonar - Hipoxemia intermitente - Hipercapnia intermitente	- Hipertensión arterial - Hipertensión pulmonar - Problemas cardíacos: Cardiopatías estructurales, arritmias. - Ateroesclerosis tanto a nivel cardíaco como carotídeo (ICTUS y cardiopatía isquémica) - Cefalea al despertar

Trastornos secundarios a alteración de la secreción hormonal	- Disminución de la libido e impotencia en el hombre - Nicturia y enuresis nocturna - Alteración del desarrollo en la infancia
--	--

Es por todo ello que, por ejemplo, los pacientes con AOS tienen al menos el doble de riesgo de hipertensión, cardiopatía isquémica, arritmias y enfermedad cerebrovascular (2-12). Además, la excesiva somnolencia diurna de los pacientes con trastornos respiratorios del sueño también aumenta de manera significativa riesgo de accidentes de tráfico (13-18). Por concretar datos al respecto, se ha publicado que los pacientes con apnea obstructiva del sueño tienen una tasa de accidentes de tráfico siete veces superior que los sujetos sin AOS (19) y más allá, que la proporción de pacientes con apnea obstructiva del sueño grave que sufren accidentes relacionados con el sueño es casi del doble que la de los pacientes con AOS leve o moderada (20).

En cuanto a la prevalencia de los trastornos respiratorios del sueño, cabe destacar que es muy elevada (hasta un billón de personas en el mundo (21-22), siendo el más frecuente de todos estos trastornos la apnea obstructiva del sueño (**Figura 2**).

Figura 2. Prevalencia de apnea obstructiva del sueño a nivel mundial.



Con permiso de Benjafield et al. Lancet Respir Med. 2019 Aug;7(8):687-698

Además, se observa una tendencia al alza de la prevalencia en los estudios epidemiológicos de los últimos 10 años). Las principales causas a las que se atribuye este aumento de prevalencia son cuatro: aumento de peso de la población en las últimas décadas, diferentes diseños en los estudios, diferentes criterios empleados en la detección de eventos respiratorios durante el sueño (desde 2011 se consideran a los esfuerzos respiratorios asociados a microdespertar como hipopneas a efectos diagnósticos) y, sobre todo, a la cada vez mayor precisión a la hora de detectar eventos respiratorios durante el sueño de los dispositivos utilizados para el diagnóstico como consecuencia del avance tecnológico de los últimos años.

Por estos dos motivos, importantes consecuencias clínicas derivadas esta patología y su elevada prevalencia que conllevan un gran impacto económico en la sociedad (un paciente con AOS conlleva un gasto a la sanidad 2-3 veces mayor que una persona sin AOS, dato ajustado a edad y sexo (23), se considera a la apnea obstructiva del sueño un problema de salud de primer nivel en la actualidad.

Además, se debe reseñar que es una patología que se observa principalmente en los países desarrollados al ser unos de los principales factores

de riesgo para su desarrollo -al favorecer al colapso de vía aérea superior- la obesidad y la edad avanzada (**Tabla 2**).

Tabla 2. Factores de riesgo de apnea obstructiva del sueño

Factor de riesgo de AOS	Motivo
Obesidad	- Restricción pulmonar - Acumulación de adipocitos en paredes de faringe con disminución de su luz - Acumulación de adipocitos entre fibras de musculatura dilatadora de faringe
Hipertrofia de lengua, paladar blando, úvula, amígdalas y/o adenoides	- Mecanismo físico
Retrognatia	- Desplazamiento de hueso hioides hacia vía aérea superior
Menor actividad de musculatura dilatadora de vía aérea superior por causa distinta a obesidad	- Estrechamiento de vía aérea superior por colapso de faringe
Sexo (varón)	- Anatomía de vía aérea superior - Mayor depósito de adipocitos en torno a vía aérea superior
Edad avanzada	- Mayor depósito graso en vía aérea superior

	- Alteración de actividad de musculatura dilatadora - Inestabilidad del centro respiratorio - Alteración en la estructura del sueño
Alteración neurológica que afecte a centro respiratorio o a control de ciclo vigilia-sueño	- Ausencia de respuesta compensadora a la disminución de calibre de vía aérea superior durante el sueño (microdespertar, esfuerzo respiratorio...)

Por último, en cuanto al tratamiento, hay que destacar los dispositivos que administran una presión positiva continua en la vía aérea (CPAP) no solo por su eficacia, sino también por su costo-efectividad (24). Se trata de un dispositivo que, por mecanismo puramente mecánico al administrar una presión positiva de aire preestablecida en la vía aérea superior del paciente, evita el colapso intermitente de la misma y por tanto los episodios reiterados de obstrucción al flujo aéreo de la vía superior durante el sueño (**Figura 3**).

Figura 3. Tratamiento con presión positiva continua en la vía aérea (CPAP)



Con ello, se evita tanto la desaturación de oxígeno intermitente, como la hipercapnia intermitente y los cambios de presión patológicos intratorácicos y, además, se normaliza la estructura del sueño con lo que se consigue controlar las

consecuencias derivadas de esta patología no solo a nivel sintomático (resolución de excesiva somnolencia diurna, de la cefalea matutina y de los problemas tanto cognitivos como de bajo estado de ánimo, control de la nicturia y enuresis nocturna y mejoría de la libido, entre otros) sino también a nivel de riesgo cardiovascular (25).

No obstante, entre sus beneficios todavía no se ha demostrado si tiene un efecto positivo en cuanto a disminución de riesgo de cáncer pues en nuestro conocimiento el único estudio publicado al respecto es el de Justeau et al cuyos resultados no pudieron demostrar tal beneficio pues no objetivaron una asociación entre adherencia al tratamiento con CPAP en pacientes con AOS y una reducción en la incidencia de todos los cánceres (26).

1.2 MELANOMA

El melanoma es un tipo de cáncer de piel que se produce por un crecimiento descontrolado de los melanocitos, las células encargadas de la producción de melanina (compuesto principal responsable de la pigmentación oscura de la piel, iris de los ojos y el cabello y cuya función más importante es la de la protección cutánea –especialmente a las capas más profundas y sensibles- frente al daño ocasionado por la radiación ultravioleta).

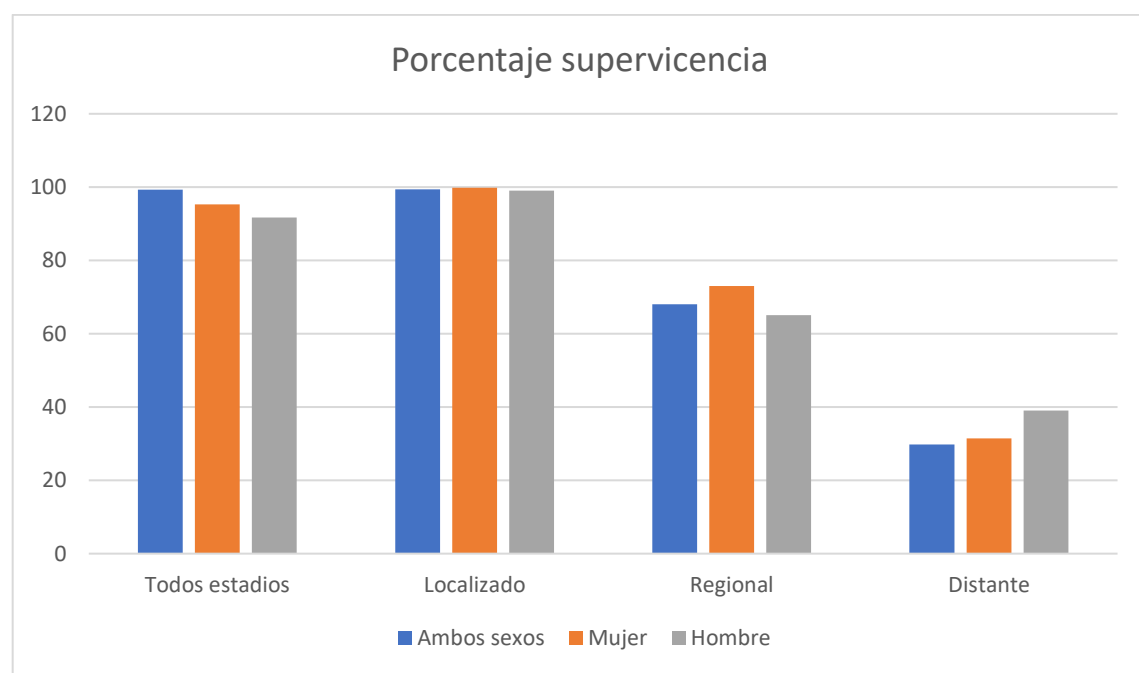
Lo más frecuente es que aparezca sobre piel sana, en cuyo caso se denomina melanoma de novo. Sin embargo, en otras ocasiones se forma a partir de proliferaciones melanocíticas que predisponen al desarrollo de este tumor, como puede ser el nevus.

El crecimiento de este tumor suele ser en dos fases, una fase radial y otra de invasión a capas profundas de la piel.

La importancia de esta neoplasia no radica en su frecuencia pues no es el cáncer cutáneo más frecuente, ya que el primer puesto en frecuencia corresponde al cáncer de células basales y al de células escamosas, sino en su agresividad (**Figura 4**).

Y es que el melanoma, pese a ocupar el tercer lugar en frecuencia de las neoplasias malignas (únicamente es responsable de menos del 2% de ellas), causa la mayor cantidad de muertes debidas a este tipo de tumoraciones ya que se estima que hasta el 80% de las muertes producidas por cáncer cutáneo es debida a melanoma (27).

Figura 4. Tasas relativas de supervivencia del melanoma cutáneo según SEER a 5 años, 2011-2017, por estadio al momento del diagnóstico y sexo.



Fuente de los datos: Archivos de Mortalidad de EE. UU., Centro Nacional de Estadísticas de Salud, CDC.

Se han descrito algunos factores de riesgo que predisponen al desarrollo de melanoma tales como la exposición solar intensa e intermitente con desarrollo de quemaduras cutáneas, exposición a radiación ultravioleta mediante cavinas de bronceado (especialmente a partir de los 35 años), tener una piel clara con tendencia al desarrollo de pecas -fototipos cutáneos I y II según la clasificación del Dr.Fitzpatrick (**Tabla 3**)-, presencia de nevus cutáneos, historia personal o familiar de melanomas cutáneos, inmunodepresión y pertenecer a un nivel socioeconómico

alto (aunque este último aspecto probablemente esté influido por los mayores recursos a la hora de asistir a centro sanitario para establecer un diagnóstico de las personas con mayor nivel socioeconómico). De todos ellos, la exposición a la radiación ultravioleta solar es el factor de riesgo más importante.

Tabla 3. Fototipos cutáneos

Fototipo	Reacción a la exposición solar	Color de piel
I	Quemadura solar fácil, no se broncea	Pálida rosada
II	Quemadura solar fácil, bronceado mínimo	Clara
III	Quemadura mínima, se broncea moderadamente	Clara sin exposición al sol pero se broncea con la exposición
IV	Bronceado fácil, quemadura mínima	Morena ligera
V	Bronceado intenso, raramente desarrolla quemadura	Morena intensa
VI	Bronceado intenso, no desarrolla quemadura	Marrón oscura o negra

Existen diferentes subtipos de melanoma en base a datos relacionados con la fase de crecimiento (hacia superficie predominantemente o en profundidad), la distribución del tumor en el organismo, aspectos anatomopatológicos y la evolución. De este modo, pueden distinguirse los distintos subtipos (28):

- Melanoma de extensión superficial: el más frecuente de todos (hasta el 70% según series). Macroscópicamente se trata de una lesión marronácea-negrizca de crecimiento lento, ligeramente sobreelevada y con bordes irregulares. Predomina en zonas fotoexpuestas como es la zona alta de espalda y piernas

pues su aparición está altamente relacionada con la exposición solar intensa e intermitente.

- Melanoma nodular: tal y como su nombre indica, el aspecto macroscópico de este tumor es nodular, con coloración negruzca (aunque en algunos pocos casos puede ser clara) y tendencia al sangrado y ulceración. Su crecimiento es rápido y vertical, con invasión de capas profundas de la piel; por ello es una variedad de mal pronóstico. Predomina en cabeza y tronco.

- Melanoma lentigo maligno: se suele manifestar como una lesión macular parda-negruzca de crecimiento lento. Su fase radial es larga (superior a 10años) por lo que es el subtipo de mejor pronóstico. Predomina en cara al estar su desarrollo relacionado con la fotoexposición crónica, por este motivo es el subtipo más frecuente en la tercera edad.

- Melanoma lentiginoso acral: es el subtipo de melanoma menos frecuente en la raza blanca, pero el predominante en raza negra y asiática. Suele manifestarse como una lesión macular parda-negruzca, con distintas tonalidades y bordes irregulares mal definidos. Aparece en palmas de las manos, plantas de los pies, lecho ungueal y mucosas, por lo que su relación con la radiación ultravioleta es discutida. El pronóstico también suele ser malo, pese a no ser el de más rápido crecimiento.

Una vez establecido el diagnóstico, que suele realizarse mediante confirmación anatomopatológica de una lesión cutánea objetivada (pues a diferencia de la visión directa por dermatoscopia la biopsia de la lesión permite, además del diagnóstico, la estadificación como se muestra a continuación), existen diferentes factores pronósticos a tener en consideración.

El “American Joint Committee on Cancer” (sistema de estadificación que recopila la información de más de 50.000 pacientes con melanoma de tres continentes) incluye como principales factores pronósticos de este tumor el espesor tumoral medido mediante el Índice de Breslow, la presencia/ausencia de ulceración, el número de mitosis por milímetro cuadrado, y la presencia/ausencia de microsatelitosis (metástasis de muy pequeño tamaño que se encuentran

adyacentes o profundas al tumor primario, se considera como indicador de diseminación linfática).

De todos los factores pronósticos el más importante es el Índice de Breslow, que traduce el espesor del tumor en milímetros, midiendo desde el estrato granuloso de la piel hasta la célula tumoral más profunda (permite, por tanto, conocer el grado de invasión de dermis y tejido subcutáneo por parte del tumor). Su importancia es tal que esta medida se utiliza para determinar el estadio del melanoma (**Tabla 4**).

Tabla 4. Estadificación de melanoma exclusivamente por índice de Breslow.

Categoría T de la estadificación de melanoma en relación únicamente con el Breslow	Índice de Breslow
Melanoma in situ	
T1	Inferior a 1 mm
T2	Entre 1 y 2 mm
T3	Entre 2.1 y 4mm
T4	Superior a 4 mm

mm: milímetros.

Afortunadamente, en los países desarrollados el diagnóstico de melanoma se produce cuando el grosor del mismo es inferior a 1 milímetro siendo el porcentaje de melanomas que metastatizan tras el diagnóstico inferior al 15% (29-30).

1.3 APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO Y CÁNCER

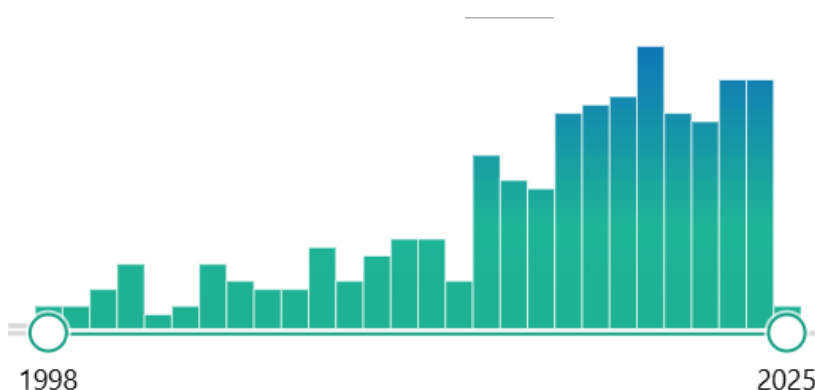
Hasta la fecha, diferentes estudios, aunque la mayoría retrospectivos, han mostrado un aumento de la incidencia de cáncer y mortalidad en pacientes con mayor gravedad de trastornos respiratorios del sueño.

Como se ha indicado con anterioridad, la hipoxia intermitente y la desestructuración del sueño son dos de los efectos directos de la apnea obstructiva del sueño. Estos efectos tienen consecuencias celulares probadas que, por alteración en la producción de distintas moléculas, aumentan la probabilidad de desarrollar una neoplasia y favorecen tanto la proliferación como la invasión del tumor una vez desarrollado dotando con ello al tumor de una mayor agresividad. (31).

Una de las vías mejor estudiadas es la relacionada con la hipoxemia intermitente. Mientras que la primera vez que se describió la hipoxia crónica celular fue en el año 1955 (32) no fue hasta 24 años más tarde, en 1979, cuando surgió la primera publicación que trataba sobre la hipoxia aguda en tumores (33-34).

Desde entonces el interés por el tema ha sido creciente habiéndose producido en la última década un auge en el número de publicaciones que tratan sobre la relación fisiopatológica existe entre la hipoxia intermitente y el cáncer (**Figura 5**).

Figura 5. Número de publicaciones sobre sobre la relación fisiopatológica existe entre la hipoxia intermitente y el cáncer.



En las células sometidas a hipoxia se produce una serie de mecanismos compensatorios. El principal mecanismo de adaptación a la falta de oxígeno es un aumento en la actividad del factor de transcripción HIF-1 alfa (subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia) que regula la expresión de genes implicados en mediar una respuesta adaptativa a esta situación.

Como consecuencia de la expresión de estos genes se produce una disregulación en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y una inflamación sistémica generalizada por diversos mecanismos como la activación de factores de transcripción como, ejemplo, el factor nuclear Kappa B (NF-Kb) o el aumento de las interleukinas 6 y 8 y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), entre otros mecanismos. Además, en situaciones de hipoxia y mediante la producción de HIF-1 en los organismos, se contribuye a la angiogénesis por distintas vías, siendo de las más importantes la activación de la transcripción de genes angiogénicos y sus receptores, entre los que se encuentra VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) (35).

Dado que para comprender las consecuencias derivadas del aumento de ROS y VEGF es necesario conocer, al menos de manera superficial, estas moléculas, se realiza a continuación un pequeño paréntesis para realizar un breve resumen de las dos:

- **ROS (especies reactivas de oxígeno):** se trata de un grupo de sustancias químicas continentales de radicales libres de oxígeno, de vida media corta y altamente reactivas que pueden producir daño directo en el ácido desoxirribonucleico (ADN) o alterar la respuesta del ADN a las agresiones (36). Algunos ejemplos de ROS son los radicales libres hidroxilo (OH), el ácido hipocloroso (HClO, resultado de la unión del óxido ácido de cloro con el agua), el superóxido (O_2^-) o los peróxidos (sustancias con un enlace oxígeno-oxígeno y que incluye el oxígeno en estado de oxidación -1). Uno de los más conocidos –por su nombre popular de “agua oxigenada”– sería el H_2O_2 o peróxido de hidrógeno, son algunos ejemplos de ROS. Estas sustancias se producen en las mitocondrias, retículo endoplasmático o peroxisomas de células en respuesta a diferentes agresiones externas. Estas moléculas pueden estar implicadas tanto en la inducción de la apoptosis y detención del ciclo celular como en la proliferación

celular según la actividad del sistema antioxidativo o la intensidad o localización de la explosión respiratoria (proceso por el que las células liberan especies reactivas de oxígeno de manera violenta en las situaciones de falta de oxígeno o consumo de energía).

- **VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular):** la primera vez que se escribe sobre la importancia de la angiogénesis en el crecimiento y proliferación de tumores sólidos fue en 1971, por parte de Judah Folkman quien objetivó que los tumores sólidos en ausencia de neovascularización detenían su crecimiento al alcanzar los 2-3 milímetros de tamaño mientras que cuando ese mismo tumor se injertaba en una zona con capacidad de formación de nuevos vasos -se injertó en músculo de conejo- se producía una rápida neovascularización acompañada de un crecimiento tumoral. Es por ello que en ese mismo documento se propone por primera vez el término “antiangiogénesis” como probable terapia en el cáncer (37).

VEFG es un conjunto de proteínas (**Tabla 5**) implicadas tanto en la angiogénesis (crecimiento de vasos sanguíneos ya formados) como en la vasculogénesis (formación de nuevos vasos a partir de células endoteliales progenitoras), fenómenos que como se ha indicado, favorecen el crecimiento tumoral y la resistencia al tratamiento.

Tabla 5. Factor de crecimiento endotelial vascular en humanos.

VEGF en humanos	
Proteína	Función
VEGF-A	• Quimiotáctico para macrófagos y granulocitos • Vasodilatación (de forma indirecta, por liberación de NO) • Angiogénesis ○ Estimula la migración de células endoteliales ○ Aumenta la mitosis de células endoteliales ○ Favorece la creación de la luz de los vasos sanguíneos ○ Estimula la creación de las fenestraciones de los vasos ○ Aumenta la actividad de la Metano monooxigenasa (MMO) ○ Incrementa la actividad de la integrina $\alpha\beta 3$

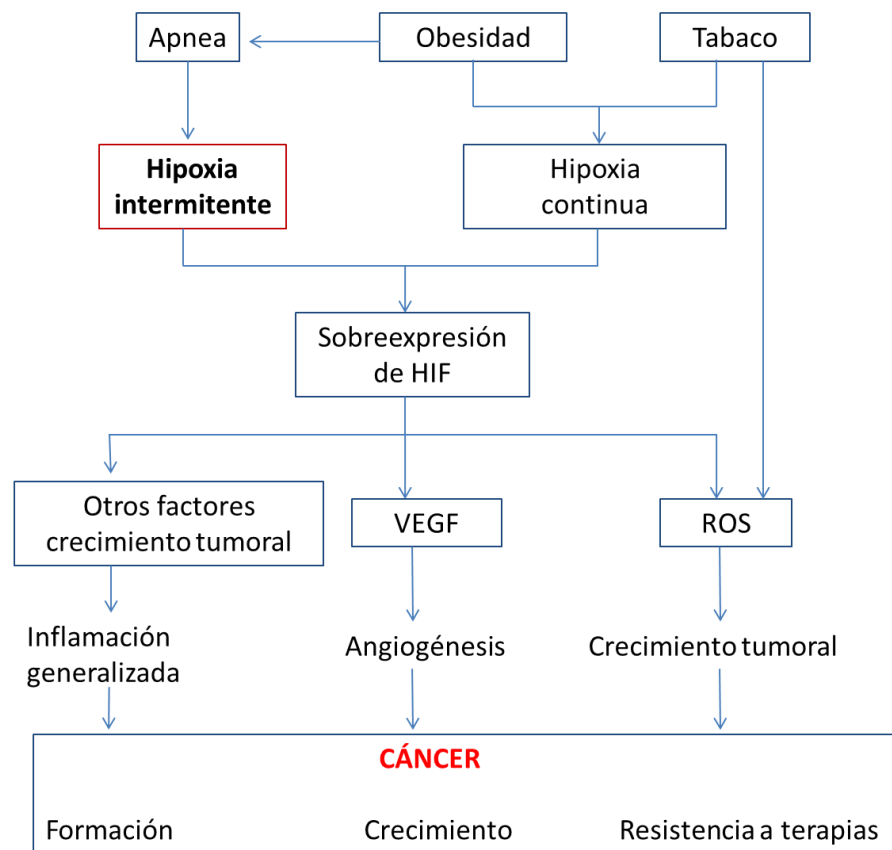
VEGF-B	Vasculogénesis
VEGF-C	Formación de la linfa
VEGF-D	Necesario para el desarrollo de vasos linfáticos de los bronquiolos
PIGF	• Vasculogénesis • Util en situaciones de inflamación, cicatrización, isquemia y cáncer.

PIGF: factor de crecimiento placentario.

Además, HIF-1 ha sido relacionado con activación de la transcripción de genes y cambios del sistema inmune que juegan un papel fundamental en una mayor invasión tumoral, inhibición de apoptosis tumoral en melanomas, mayor producción de metástasis y mayor resistencia quimioterapia (**Figura 6**) (38).

Por último, tal y como se ha indicado con anterioridad, la obesidad es una de las principales comorbilidades la apnea obstructiva del sueño. En su caso, también se ha demostrado cómo esta patología produce hipoxia tisular al producirse –por acúmulo de lípidos en los adipocitos que conlleva la hipertrofia– un aumento en la distancia de difusión entre capilares y las células del tejido adiposo (39). Por este motivo, la obesidad por sí sola activa mediante diferentes mecanismos (siendo uno de ellos el aumento de HIF-1) la cascada inflamatoria predisponiendo el estado de inflamación sistémica al desarrollo de neoplasias (40).

Figura 6. Hipoxia y cáncer



VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, ROS: especies reactivas de oxígeno

Las consecuencias de toda esta vía fisiopatológica ha sido reforzada, especialmente en los últimos años, con múltiples estudios que han demostrado la asociación existente entre la exposición celular a hipoxia y el cáncer de distintas extirpes.

En el año 2006, Martinive et al utiliza el mismo protocolo de hipoxia intermitente (tres periodos consistentes en disminución de la FiO₂ al 0.07 durante una hora con posterior aumento de FiO₂ hasta 0.21 durante media hora) con distintas extirpes celulares –células tumorales hepáticas en el caso de modelo murino demostrando una disminución de la apoptosis celular ejercida por radioterapia cuando se realizaba una irradiación controlada tras la hipoxia. Estos mismos efectos fueron reproducidos simultáneamente en modelo celular “in vitro”

con células tumorales hepáticas pero también en células de fibrosarcoma y melanoma (41).

Sin embargo, estos estudios no son los que utilizaron unas condiciones de hipoxia más estricta pues en otros se expuso a las células tumorales mamarias a una FiO_2 del 0.002 durante 16h (Verduzco et al, año 2015) (42) y hasta 24h (Gutsche et al, año 2016) (43) objetivando cambios proinflamatorios, angiogénicos, mayor resistencia tumoral y peor respuesta al tratamiento en el primer caso y cambios proinflamatorios relacionados con la predisposición tumoral (Inducción de NF-Kb) en el segundo.

Ambas publicaciones contaban con el antecedente de un estudio previo en células de cáncer de mama en el año 2010 llevado a cabo por el grupo de Louie et al (44). En éste, se expuso a las células tumorales a ciclos de hipoxia con FiO_2 de 0.01 durante una semana demostrando que las células supervivientes presentaban cambios que incrementaban su potencial maligno.

Unos años más tarde se realizaron nuevos estudios con esta misma FiO_2 del 0.01, aunque mantenida durante periodos más cortos y células de diferente extirpe (Bhaskara et al, años 2012 y 2014. Sometimiento a células de neuroblastoma a hipoxia durante episodios de 24-48horas), demostrando que en este tipo de tumor la hipoxia producía un aumento en la expresión de HIF-1 y de VEGF, entre otros, y que aumentaba también la migración celular (45-46).

Continuando con tumores del sistema nervioso –y con ciclos de hipoxia con una FiO_2 inferior al 0.01- en el año 2015 Chen et al expusieron a células de glioblastoma a 3 ciclos de una hora de duración de hipoxia con una FiO_2 de 0.005-0.01 intercalados con periodos de media hora de exposición a un aire con una CO_2 del 5%. La consecuencia observada fue una activación de ROS y un incremento en la expresión de los niveles de HIF-1 y NF-Kb (47).

Por último, en 2015 el grupo de Tellier et al también demostró que al someter a células de adenocarcinoma pulmonar a hipoxia (tres ciclos de hipoxia, con FiO_2 0.01) se favorecía a la infiltración del tumor por parte de leucocitos, se producía una mayor expresión de VEGF y también una mayor expresión de citokinas inflamatorias como la interleukina 6 o la Proteína Inflamatoria de

Macrófago 2 (MIP-2) que participa en el daño inflamatorio mediado por macrófagos (48).

A modo de resumen, se puede ver el grupo de investigación, año de publicación, extirpe celular utilizada y resultados de cada uno de los estudios nombrados con anterioridad (**Tabla 6**).

Tabla 6. Estudios más importantes sobre la asociación entre la hipoxia y el cáncer, excluyendo melanoma (pues se dedicará posteriormente un apartado a la relación entre hipoxia, apnea y melanoma).

Grupo de investigación	Año	Extirpe celular	Consecuencias de la hipoxia
Martinive et al	2006	Cáncer hepático	- Mayor resistencia a radioterapia.
Martinive et al	2006	Fibrosarcoma	- Mayor resistencia a radioterapia
Louie et al	2010	Cáncer de mama	- Incremento de potencial maligno de células tumorales
Bashkara et al	2012	Neuroblastoma	- Aumento de HIF-1 y VEGF - Incremento de genes asociados a estado de “stemness” celular
Bashkara et al	2014	Neuroblastoma	- Estimulación de migración celular. - Regulación al alza de VEGF, factores osteoclasticos y ligando activador de NF-Kb.

Telliler et al	2015	Adenocarcinoma pulmonar	- Favorece la infiltración de leucocitos en el tumor.
Verduzco et al	2015	Cáncer de mama	- Cambios en expresión de HIF-1, VEGF, p53 y Cadherina E. - Mayor supervivencia del células tumorales en hipoxia. - Resistencia al tratamiento.
Chen et al	2015	Glioblastoma	- Activación de ROS. - Incremento de HIF-1 y NF-Kb.
Gutsche et al	2016	Cáncer de mama	- Inducción de NF-Kb.

HIF-1: factor 1 inducible por hipoxia, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, NF-Kb: factor nuclear Kappa B, p53: proteína 53, ROS: especies reactivas de oxígeno.

* El estado "stemness" es la capacidad de las células de perdurar en un estado indiferenciado con capacidad de proliferar y diferenciarse a cualquier tipo celular derivado de las tres capas embrionarias, siendo así capaz de activar la expresión génica de factores vinculados con el estado pluripotente y también de oprimir la expresión de otros genes relacionados con la diferenciación celular.

De hecho, en uno de los principales campos en los que ha sido estudiada esta vía fisiopatológica es en la apnea obstructiva del sueño.

El grupo de Almendros et al fue el primero en realizar estudios en animales de laboratorio con hipoxia intermitente en relación directa con la apnea obstructiva del sueño (en el año 2012, se abarcará en el próximo apartado con profundidad pues se utilizaron células de melanoma). Este grupo demostró también en los años 2014 y 2015 (49-50), en modelo animal con ratones, que al someter durante varias semanas a roedores a los que se les había implantado células de adenocarcinoma pulmonar en tejido subcutáneo a ciclos de hipoxia con FiO2 inferiores a 0.08 se

producía un mayor crecimiento tumoral que en el grupo control a los 28 días de inicio del ensayo. Además, también se objetivó un mayor reclutamiento de macrófagos en el tejido adiposo.

Ese mismo año y también en modelo animal con ratones a los que se les había inyectado células de adenocarcinoma pulmonar y se les había sometido a ciclos de hipoxia intermitente (ciclos de 90 segundos de exposición a FiO_2 de 0.06), Cortese et al demostraron que el grupo sometido a hipoxia no solo mostraba un tumor de mayor tamaño y peso sino que también presentaba una mayor invasión a tejido muscular y mayor cantidad de ADN circulante en plasma (que presentaba además características epigenéticas distintas al grupo control) (51).

En este momento, se remite nuevamente al estudio de Tellier et al de 2015 (48) pues además de la hipoxia celular in vitro comentada con anterioridad también realizaron estudio de hipoxia en ratones (ciclos de descenso de FiO_2 durante una hora hasta 0.07 en el modelo animal) a los que se les había inyectado células de adenocarcinoma pulmonar en la parte posterior de la pata izquierda. En este caso, se objetivó un aumento en la expresión de genes y producción de moléculas proinflamatorias, tanto en el modelo in vitro como en el modelo animal, en condiciones de hipoxia intermitente.

Un año más tarde, nuevamente el grupo de Almendros et al (uno de los grupos españoles más interesados en el tema y que, por tanto, más aportaciones ha realizado en el campo) evidenció, una vez más en estudio con ratones de laboratorio a los que se les inyectó células de cáncer pulmonar subcutáneo y se les sometió a una atmósfera hipóxica objetivó, una vez más, que en los ratones expuestos a hipoxia intermitente se producía un mayor crecimiento tumoral. Pero más allá de este hallazgo, en este estudio también se analizó cantidad de exoxonas liberados y las características de éstos en los ratones sometidos a hipoxia, en ratones no sometidos a hipoxia y, lo que es incluso más interesante, en plasma de pacientes con apnea obstructiva del sueño tanto al diagnóstico (por polisomnografía) como tras 6 semanas de tratamiento con CPAP (dispositivo que emite una presión positiva continua de aire durante toda la noche impidiendo con ello el colapso de la vía aérea superior por un fenómeno físico, actualmente es el principal tratamiento para pacientes con síndrome de apnea/hipopnea del sueño).

Se demostró que en condiciones de hipoxia intermitente y apnea obstructiva del sueño no tratada se encontraba en plasma una mayor concentración de exoxomas, que además tenían unas características que conferían una mayor malignidad a los tumores, en comparación al plasma de pacientes sin apnea obstructiva del sueño o con AOS tratada con CPAP durante 6 semanas (52).

Ya en 2017, Vilaseca et al sometieron a ratones a los que se les había inducido un cáncer renal a ciclos de hipoxia (alternancia de 40 segundos con una atmósfera normal seguidos de 20 segundos con FiO₂ 5% sin demostrar en este caso que la hipoxia intermitente produjera un aumento del tamaño de tumor o mayor capacidad metastásica con respecto al grupo control, a pesar del aumento de VEGF (53).

A continuación, se puede ver el grupo de investigación, año de publicación, extirpe celular utilizada y resultados de cada uno de los estudios nombrados con anterioridad (**Tabla 7**).

Tabla 7. Hipoxia intermitente y cáncer, modelos de apnea obstructiva del sueño excluyendo melanoma (pues se dedicará posteriormente un apartado a la relación entre hipoxia, apnea y melanoma):

Grupo de investigación	Año	Extirpe celular	Consecuencias de la hipoxia
Almendros et al.	2014	Adenocarcinoma pulmonar	- Incremento de crecimiento tumoral. -Incremento de capacidad de invasión y de daño endotelial del tumor.
Almendros et al.	2015	Adenocarcinoma pulmonar	- Reclutamiento de macrófagos en tejido adiposo.

Cortese et al	2015	Adenocarcinoma pulmonar	- Alteraciones epigenéticas. - Incremento en la circulación de ADN.
Tellier et al	2015	Adenocarcinoma pulmonar	- Favorece la infiltración de leucocitos en el tumor.
Almendros et al	2016	Adenocarcinoma pulmonar	- Favorece la proliferación, invasión, extravasación y migración tumoral. - Cambios en concentración de exoxomas y en las características de los mismos. - Los cambios en concentración y características de exoxomas son modificables con el tiempo si se corrige la hipoxia intermitente.
Vilaseca et al	2017	Cáncer de riñón	- Aumento de la angiogénesis tumoral a través de VEGF.

ADN: ácido desoxirribonucleico, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

Por último, la relación entre apnea obstructiva del sueño y cáncer también ha sido demostrada en diferentes estudios observacionales en humanos.

El primer estudio al respecto fue publicado por el grupo de Nieto et al en el año 2012 (54). En base a datos de seguimiento durante 22 años de la muestra de la Cohorte del Sueño de Wisconsin -un total de 1522 personas-, objetivaron que existía una relación dosis-respuesta entre el índice de apneas-hipopneas

(calculado mediante registro nocturno continuo por polisomnografía) y la mortalidad ajustada de cáncer con una OR de 4,8 (IC95% 1,7-13,2) para un IAH>30 respecto al grupo control (sin diagnóstico por polisomnografía de apnea obstructiva del sueño al presentar un IAH inferior a 5 eventos por hora).

Desde entonces el aumento de estudios observacionales en humanos que demuestran la asociación entre apnea obstructiva del sueño y diferentes estirpes de cáncer, bien por mortalidad o incidencia, ha sido exponencial.

Un año más tarde el grupo de Campos et al publicaron el primer estudio que revelaba la asociación existente entre la apnea obstructiva del sueño y la incidencia de cualquier tipo de cáncer (55). Para ello realizaron un seguimiento durante una mediana de 4 años y medio a 4910 pacientes con sospecha de presentar síndrome de apnea/hipopnea del sueño –y sin antecedente de cáncer– y objetivaron que en los pacientes de menos de 65 años existía una asociación entre el CT90% (porcentaje total de tiempo del registro en el que la saturación se encuentra por debajo del 90%) y el IAH con una mayor incidencia de cáncer de cualquier etiología. Sin embargo, en la población de mayor edad aunque también se objetivó una relación entre el CT90% y la incidencia de cáncer no la hubo con el IAH.

Una relación no tan significativa fue descrita en el año 2013 por el grupo de trabajo de Christensen et al pues en este caso únicamente objetivaron, en población danesa, una relación entre los síntomas de apnea obstructiva del sueño y la incidencia de algunos tipos de cáncer (las neoplasias relacionadas con tabaco, consumo de alcohol y alteraciones inmunológicas/infecciones virales). No obstante, cabe destacar que en este estudio no se dispone poligrafía ni polisomnografía nocturna a la población estudiada sino que únicamente se basa en recogida de datos sobre algunos síntomas presentes en la apnea obstructiva del sueño como pueden ser los ronquidos, las apneas nocturnas o la somnolencia diurna (56).

Ya en el año 2014 el grupo de Marshall et al realizaron un seguimiento durante 20 años a 393 personas diagnosticadas de apnea obstructiva del sueño objetivando que existía un aumento tanto en la mortalidad por cualquier causa como en la mortalidad específicamente por cáncer en los pacientes que tenían un

índice de apnea/hipopnea mayor a 15 eventos por hora (pacientes a los que se les clasifica, por tanto, como afectos de AOS moderada o grave); grupo en el que también se observaba una mayor incidencia de cáncer (57).

Ese mismo año el grupo Kendzerska et al objetivó, esta vez utilizando también una polisomnografía nocturna para el diagnóstico de apnea obstructiva del sueño, únicamente asociación entre el CT90% y la incidencia de neoplasias relacionadas con el tabaco sin que existiera relación entre los datos de desaturación nocturna y el resto el cáncer de otras etiologías (aunque hay que tener en cuenta que se trató de un estudio observacional, histórico y unicéntrico con las limitaciones que ello supone a la hora de recabar toda la información sobre estadio o manejo de las neoplasias, por ejemplo, y para generalizar los resultados a la población de todo el mundo) (58).

Sí fue, por el contrario, un estudio multicéntrico el publicado también en el año 2014 por el grupo español de Martínez-García et al (59). En él se recogía una población de 5,427 adultos a los que se les había realizado un estudio de sueño mediante polisomnografía o poligrafía nocturna por sospecha de apnea obstructiva del sueño entre los años 200 y 2007. Se dispuso de un seguimiento medio de unos 4 años y medio presentando, durante el mismo o como antecedente previo, un diagnóstico de cáncer en 527 pacientes y 90 fallecimientos producidos directamente por el cáncer. Aunque no hubo relación del IAH con una mayor mortalidad por cáncer sí existió esta asociación con un mayor CT90%, especialmente en pacientes con menos de 65 años y varones.

Como puede observarse en lo descrito, hasta entonces no existían estudios que demostraran una asociación entre la apnea obstructiva del sueño y la incidencia o mortalidad por una estirpe de neoplasia en concreto pues todos los estudios recogían todos los tipos de cáncer diagnosticados en sus series.

Fueron en 2014 cuando surgen, por tanto, las primeras publicaciones de estudios observaciones en humanos que mostraban tal asociación. El primer estudio en humanos dirigido a establecer una posible asociación entre la apnea obstructiva del sueño y una estirpe de neoplasia concreta corrió a cargo del grupo español de Martínez et al (60) y fue publicado en el año 2014 (será abordado en el apartado siguiente al centrarse en el melanoma). Un tiempo después, en julio

de 2014, el grupo de Chen et al también demostraron una mayor incidencia de tumores, del sistema nervioso central en este caso, en pacientes con AOS tras un seguimiento durante 10 años a 23055 pacientes con AOS y emparejarlos por edad y sexo con pacientes sin apnea obstructiva del sueño en ese mismo periodo (desde el año 2000 al 2003) (61).

Ya en el año 2015 son dos los grupos de trabajo cuyos estudios observacionales mostraron relaciones entre la apnea obstructiva del sueño y el cáncer de alguna etiología. El primero de ellos fue el del grupo de Fang et quienes publicaron los resultados de un estudio anidado de casos y controles con 68422 pacientes con cáncer y 136844 personas sin diagnóstico de cáncer en el que se mostraba que los pacientes con AOS tenían, tras ajustar por edad y sexo, un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama, próstata y nariz (62). El segundo trabajo corresponde al equipo de Cohen et al (63), dado que la variante de cáncer tratado es el melanoma se tratará en el siguiente apartado.

En el año 2016 Gozal et al extrajeron datos tanto de registros nacionales como de las aseguradoras de un total de 1700000 pacientes con apnea obstructiva del sueño y el mismo número de pacientes sin esta patología y objetivaron que los pacientes con que sí la presentaban tenían una mayor incidencia de cáncer de riñón, de páncreas y melanoma que el grupo considerado como control. Sin embargo, el grupo sin AOS presentó un mayor número de neoplasias de mama, próstata, colon y recto que los pacientes con AOS, por lo que los datos no ajustados por subtipo de neoplasia no mostraron una diferencia estadísticamente significativa en la incidencia de cáncer entre ambos grupos (64).

En el año 2017 también se publicó un único estudio al respecto. Se trata del grupo de Lee et al, en el que se identificaron a 163 pacientes a los que se les realizó polisomnografía (111 diagnosticados de apnea obstructiva del sueño tras la prueba) y colonoscopia posterior entre enero del año 2000 y marzo del 2015 objetivando, tras emparejar con 195 individuos controles, que los pacientes con diagnóstico de AOS tenían un riesgo hasta tres veces mayor que los controles de presentar un cáncer colorrectal avanzado tras ajustar los datos a sexo, edad, índice de masa corporal y tabaquismo (65).

Son tres las publicaciones que surgieron en el año 2018, dos españolas y la otra de un grupo americano. Por parte de los grupos españoles, Campos-Rodríguez et al realizaron un estudio transversal en el que a 83 mujeres con menos de 65 años diagnosticadas de cáncer de mama se les realizó una poligrafía respiratoria diagnóstica domiciliaria sin que se encontrara asociación entre el IAH y resto de parámetros de oximetría nocturna con marcadores de agresividad del cáncer tales como el estadio tumoral, el índice de proliferación KI67, la ausencia de receptores hormonales o el grado histológico de Nottingham (66). El segundo grupo español, el de Martínez-García et al (67), trabajó con el melanoma como estirpe de neoplasia por lo que se tratará en el próximo apartado.

En cuanto al grupo americano, fue el equipo de Sillah et al quienes demostraron que en los pacientes diagnosticados de apnea obstructiva del sueño entre los años 2005-2014 en una cohorte retrospectiva con datos del sistema de Medicina de la Universidad de Washington y el Sistema de Vigilancia del Cáncer del Estado de Washington Occidental (34402 pacientes con AOS) existía un mayor riesgo de presentar cáncer de riñón, mama, cuerpo uterino y melanoma que en la población general. Aunque también cabe destacar que estos pacientes presentaban una menor incidencia de neoplasias colorrectales y de pulmón (68).

En febrero de 2020 se publicó el estudio de Gao et al. Este grupo realizó un estudio de aleatorización mendeliana de dos muestras en una población china y una población asiática del Consorcio de la Asociación de Cáncer de Mama evidenciando que un mayor riesgo de apnea obstructiva del sueño determinado genéticamente conllevaba, en esa población, también a un mayor riesgo de cáncer de mama (69). Ese mismo mes, el grupo de Chen et al publicó resultados también de estudios con población asiática, concretamente con datos extraídos de la base de datos de investigación del seguro de salud nacional de Taiwán, en la que se incluía a 4180 pacientes con diagnóstico reciente de AOS y 16720 individuos sin AOS de la misma edad y sexo; se objetivó que la incidencia de cáncer colorrectal era mayor en pacientes con AOS que en los individuos sin apnea obstructiva del sueño (70).

Ya en noviembre de ese mismo año, el equipo de Cho et al utilizó también una base datos de población asiática como es la base de datos del Servicio

Nacional de Seguro de Salud de Corea (este seguro de salud aporta cobertura a toda la población coreana) observando, tras un seguimiento de media de unos 4,8 años a un total de 198,574 pacientes con diagnóstico de apnea obstructiva del sueño a los que se les emparejó por edad y sexo con 992870 individuos considerados como controles, una mayor incidencia de tumores cerebrales en los pacientes con AOS (71). Por último, el grupo de Choi et al ya había extraído datos un mes antes de esta base de datos con el mismo protocolo, pues ambos colaboraron en la extracción de los datos de las dos publicaciones mencionadas, observando también una mayor incidencia de un tumor no sólido como es el linfoma no Hodgkin en los pacientes con apnea obstructiva del sueño (72).

A principios del 2021, el grupo de Lee et al también utilizó información extraída de la base de datos del Servicio Nacional de Seguro de Salud de Corea entre los años 2007 y 2014 recopilando datos de un total de 152801 varones con diagnóstico de apnea obstructiva del sueño y emparejándolo con un grupo de 764005 de individuos sin AOS con un seguimiento medio de unos 4.6 años para observar cómo en los pacientes con AOS existía una mayor incidencia de neoplasia de próstata (73). Esta base de datos sería fuente de una nueva publicación pues unos meses más tarde Choi et al mostraron un estudio en el que, tras utilizar nuevamente la base de datos del Servicio Nacional de Seguro de Salud de Corea para recoger información de 198574 pacientes con diagnóstico de AOS y 992870 individuos como controles con un seguimiento de 4.5 ± 2.3 años, se demostró que en esta población también existía un aumento en la incidencia de cáncer de tiroides, especialmente en los varones de edad media (74).

Por último, también en el año 2021, el grupo de Lacedonia et al publicaron los resultados de un estudio en una cohorte de 52 sujetos con diagnóstico de cáncer metastásico de diferentes etiologías (colorrectal, mama, pulmón, ovario, páncreas, vesícula biliar, próstata y útero) entre octubre de 2016 y abril de 2020 a los que se les realizó un estudio de sueño en búsqueda de apnea obstructiva del sueño y se les realizó un seguimiento de 32 meses de media. Encontraron que de los 29 pacientes con cáncer colorrectal metastásico (extirpe mayoritaria de manera significativa) más de un tercio -10 pacientes- presentaban AOS y, además, esos pacientes presentaban una supervivencia libre de progresión y una supervivencia

global menores que el grupo sin AOS (9 frente a 20 meses y 22 frente a 40 meses, respectivamente) (75).

Continuando con el cáncer colorrectal, ya en abril de 2022, el grupo de Xiong et al recogieron los datos de 414 pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal durante todo el año 2020 y establecieron un diagnóstico de apnea obstructiva del sueño en base a resultados de pulsioximetría nocturna –cuando el índice de desaturación de oxígeno (ODI) era mayor a 5/hora- objetivando como un ODI anormal se asociaba a una mayor afectación ganglionar (clasificación N2) que los que tenían un ODI inferior a 5/h (76).

Un mes antes, el equipo de trabajo de Campos-Rodríguez et al había publicado un estudio en el que, una vez más su grupo, no encontraba relación entre los trastornos respiratorios del sueño y la agresividad de un cáncer. En este caso incluyeron a 165 pacientes menores de 66 años y con diagnóstico de cáncer prostático a los que se les realizó poligrafía domiciliaria nocturna siendo el principal marcador de agresividad establecido el Gleason y como marcadores secundarios el estadio tumoral y la extensión metastásica (77).

Ya en agosto del año 2022 el grupo de Chen et al publicaron un estudio prospectivo en 210 pacientes con cáncer papilar de tiroides a los que se les realizó una polisomnografía nocturna para registro de saturación continua y cálculo de IAH. En este estudio observaron no solo que la apnea obstructiva del sueño era un patología frecuente en estos pacientes (un IAH mayor a 15 eventos por hora y por tanto compatible con AOS moderada o grave apareció en un 20% de los pacientes) sino que, además, los pacientes con una polisomnografía compatible con una AOS moderada o grave tenían más probabilidades de presentar unos rasgos tumorales de mayor agresividad tales como mayor invasión capsular, multifocalidad, metástasis linfática cervical o mutación de BRAF, entre otras (78).

Por último, ese mismo mes el equipo de Lee et al recurrió una vez más a la base de datos del Servicio Nacional de Seguro de Salud de Corea publicando un estudio en el que se extrajo información de 162642 pacientes diagnosticados de apnea obstructiva del sueño (mayores de 20 años y sin antecedentes previos de cáncer) entre los años 2011 y 2017 a los que se les emparejó por edad y sexo con 813230 sujetos. Tras un seguimiento de 4.4 +/- 2 años observaron que el grupo

con apnea obstructiva del sueño presentaba una mayor incidencia de leucemia que el grupo considerado control, especialmente en leucemia linfocítica; demostrando, como ya había hecho el grupo de Choi et al en el año 2020 con el linfoma no Hodgkin, una asociación entre apnea obstructiva del sueño y tumores no sólidos (79).

Casi un año más tarde, en marzo 2023, el grupo de Palm et al estudiaron los datos de 62811 pacientes (de 44 centros especializados en estudio del sueño) del registro sueco para el tratamiento con presión positiva en las vías respiratorias en la apnea obstructiva del sueño, vinculándolos al registro nacional de cáncer y a los datos socioeconómicos nacionales. Tras el análisis, y una vez emparejados los pacientes por posibles factores de confusión, objetivaron cómo existía una relación entre la gravedad de AOS (tanto por índice de apnea/hipopnea como por el índice de desaturación de oxígeno) con la prevalencia de cáncer hasta 5 años antes de inicio de tratamiento con presión positiva (CPAP). Además, una vez estudiaron esta relación por subtipo de tumores, objetivaron que el ODI era especialmente elevado en los pacientes con AOS y cáncer de pulmón, melanoma maligno y próstata con respecto a los pacientes con AOS sin cáncer (80).

Por el contrario, resultados negativos en cuanto a esta asociación afloraron en un estudio publicado un par de meses más tarde por el grupo de Marriot et al en una cohorte Australiana. Pues, pese a que sí objetivaron una relación entre la hipoxemia nocturna y la prevalencia de cáncer, no encontraron tal asociación con el IAH. Además, aunque en el análisis univariable sí encontraron un riesgo elevado de incidencia de cáncer en pacientes con AOS incluso leve, tras ajustar por factores de confusión (edad, sexo, índice de masa corporal y tabaquismo) los análisis multivariantes no mostraron asociación independiente entre la gravedad de la apnea obstructiva del sueño y el aumento de la incidencia de cáncer (81).

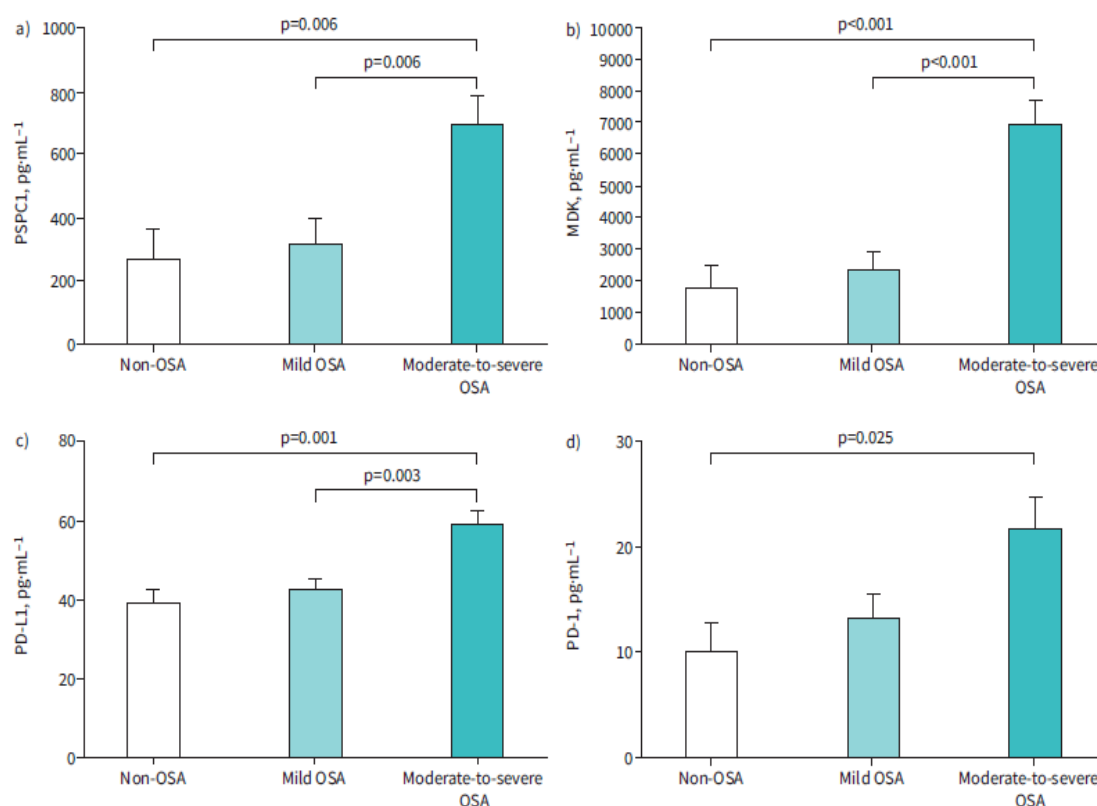
En cuanto a resultados negativos, ese mismo verano el grupo de Lee et al tampoco encontró asociación entre el índice de apnea/hipopnea, índice de desaturación y porcentaje de tiempo de sueño con desaturación (entendida como tal una saturación por debajo de 90%) con el tipo histológico de cáncer, mutaciones del tumor, estadio o supervivencia tras realizar un estudio poligráfico

a pacientes con cáncer de pulmón. Si bien es cierto que el número de pacientes fue bajo (únicamente de 69) (82).

Ya tras el verano, en octubre 2023, el equipo de Moriondo et al publicó un estudio mixto (muestras de sangre de humanos con cáncer y sin patología neoplásica así como de células de cáncer colorrectal a las que se les expuso a hipoxia intermitente con y sin a un inhibidor del factor de hipoxia intermitente) en el que demostraron que la expresión de micro-RNA era distinta en sangre de pacientes con apnea obstructiva del sueño y AOS y cáncer con respecto al resto. En cuanto a las células de cáncer colorrectal también objetivaron una mayor proliferación y migración en las células expuestas a hipoxia intermitente; efecto que se reducía al inhibir la expresión del HIF-1 α (83).

Continuando por orden cronológico, en Febrero de 2024 el grupo de Cubillos-Zapata et al publicó los resultados de un estudio transversal en el que se incluyeron muestras de suero y datos derivados de dos cohortes reclutadas prospectivamente que investigaron la prevalencia de apnea obstructiva del sueño en pacientes con riesgo de cáncer de pulmón que habían sido incluidos en un programa de detección de cáncer de pulmón y en pacientes con reciente diagnóstico de cáncer de pulmón. Observaron que los pacientes con una apnea obstructiva del sueño moderada y grave presentaban unos niveles elevados de biomarcadores relacionados con la evasión inmunitaria y agresividad tumoral (PSPC1, MDK, PD-L1 y PD-1) y que en las muestras de pacientes con cáncer de pulmón había unos niveles especialmente elevados de PSPC1, PD-L1 y PD-1 así como de TGF- β 1. Además, también hubo relación entre niveles séricos de PSPC1, MDK, PD-L1 y PD-1 con índices de desaturación intermiente como son el índice de apnea hipopnea (IAH) y el índice de desaturación de oxígeno (84).

Figura 7. Niveles de biomarcadores en pacientes de riesgo para cáncer de pulmón



Con permiso de Cubillos-Zapata et al. ERJ Open Res. 2024 Feb 19;10(1):00777-2023.

En mayo de 2024, el equipo de Cho et al, publicó un estudio basado en la Base de Datos Nacional de Información Sanitaria de Corea en el que se compararon datos de 181070 pacientes diagnosticados de AOS entre 2011 y 2018 con datos de personas sin apnea obstructiva del sueño encontrando una asociación independiente entre la AOS y un mayor riesgo de cáncer de pulmón en la población coreana (HR: 1,95; intervalo de confianza del 95 % [IC]: 1,74-2,18; valor $p < 0,001$) (85).

Ese mismo verano se publica un nuevo estudio por parte del grupo de Ding et al que también encontró asociación entre neoplasia pulmonar y AOS. En este caso, se utilizó la cohorte consistió en los pacientes hospitalizados por problema cardiovascular en el Hospital Hiser de Qingdao en los años 2021 y 2021 (un total de 750 pacientes), pacientes a los que se les realizó estudio de sueño para

diagnóstico de apnea obstructiva del sueño. Tras ello, se analizó retrospectivamente las comorbilidades de los pacientes con AOS objetivando una correlación estadísticamente significativa entre la AOS y la aparición de nódulo en pulmón. Y no solo eso pues también encontraron asociación entre la AOS y la aparición de nódulos tiroideos (86).

Por el contrario, también en agosto 2024, el grupo de Theorell-Haglow et al publicó un estudio prospectivo en el que no encontró asociación entre la apnea obstructiva del sueño y la incidencia de cáncer de cualquier estirpe o la mortalidad por patología neoplásica tras analizar datos de cuatro cohortes comunitarias prospectivas (dos australianas y dos suecas) (87).

Un mes más tarde se publicaron, sin embargo, dos estudios diferentes en los que, una vez más, sí se encontraba tal asociación.

El primero de ellos a destacar es el del equipo de Ferreira et al (88). Se trató de un estudio observacional retrospectivo que incluyó a todos los pacientes que, entre enero 2012 hasta diciembre 2022, habían sido diagnosticados de AOS y cualquier tipo de cáncer (un total de 415 pacientes). Tras dividir la muestra en tres grupos (grupo A: pacientes con AOS no grave y sin hipoxemia; grupo B: pacientes con AOS grave sin hipoxemia; grupo C: pacientes con AOS grave e hipoxemia nocturna) objetivaron como los pacientes con AOS grave y desaturación nocturna tenían una menor supervivencia siendo la mediana de supervivencia global de 265 meses (IC del 95 %: 155,89–374,10) frente a 153 meses (IC del 95 %: 125,36–180,64) en el subgrupo B y 127 meses (IC del 95 %: 71,27–182,73) en el subgrupo C con una $p < 0,001$].

En segundo lugar, cabe reseñar el estudio del grupo de Allen et al (89). En este caso, se incluyó un total de 1990 pacientes a los que, tras extracción sanguínea y realización de polisomnografía se les realizó un seguimiento de 12,8 años de media. De todos ellos, 181 presentaron un diagnóstico de cáncer tras la poligrafía encontrando una asociación entre la gravedad de la AOS y el riesgo de cáncer (HR: 1,08 por cada 10 eventos/h de aumento del índice de apnea-hipopnea, intervalo de confianza= 1,02-1,15; $p = 0,015$) . Además, tras el análisis de muestras de sangre encontraron dos biomarcadores que se asociaron también

significativamente con un mayor riesgo de cáncer como fueron la endostatina y molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM1).

Puede verse de manera resumida el grupo de investigación, año de publicación y resultados de cada una de las publicaciones nombradas en los párrafos anteriores (**Tabla 8**).

Tabla 8. Relación entre apnea obstructiva del sueño y cáncer, estudios observacionales en humanos (no se incluyen estudios de melanoma y cáncer al tratarse en un apartado posterior esta relación ni metaanálisis)

Grupo de trabajo	Año	Hallazgo
Nieto et al	2012	Relación entre IAH y mortalidad por cáncer.
Campos et al	2013	Relación entre IAH y CT90% con incidencia de cáncer.
Christensen et al	2013	Relación entre síntomas de patología respiratoria durante el sueño e incidencia de neoplasias relacionadas con tabaco, alcohol y alteración inmune/infección viral.
Marshall et al	2014	Mayor incidencia de cáncer y mayor mortalidad tanto general como por cáncer en pacientes con IAH>15/h.
Chen et al	2014	Mayor incidencia de tumores del sistema nervioso central en pacientes con AOS.
Martinez-garcía et al	2014	Relación entre CT90% y mortalidad por cáncer.

Kendzerska et al	2014	Relación entre CT90% e incidencia de cáncer relacionado con tabaco.
Fang et al	2015	Mayor incidencia de cáncer de mama, próstata y nariz en pacientes con AOS.
Gozal et al	2016	- Mayor incidencia de cáncer de riñón, de páncreas y melanoma en pacientes con AOS. - Menor incidencia de cáncer de mama, próstata, colon y recto en pacientes con AOS.
Lee et al	2017	Relación entre AOS y mayor riesgo de presentar un cáncer colorrectal avanzado
Campos-Rodriguez et al	2018	No se encuentra relación entre datos de poligrafía nocturna y marcadores de agresividad de cáncer de mama.
Sillah et al	2018	Mayor riesgo de presentar cáncer de riñón, mama, cuerpo uterino y melanoma en pacientes con AOS.
Gao et al	2020	Un mayor riesgo de AOS determinado genéticamente conlleva también a un mayor riesgo de cáncer de mama.
Chen et al	2020	Mayor incidencia de cáncer colorrectal en pacientes con AOS.
Cho et al	2020	Mayor incidencia de tumores cerebrales en pacientes con AOS.
Choi et al	2020	Mayor incidencia de linfoma no Hodgkin en pacientes con AOS.

Lee et al	2021	Mayor incidencia de cáncer de próstata en pacientes con AOS.
Lacedonia et al	2021	- Elevada prevalencia de AOS en pacientes con cáncer colorrectal. - Los pacientes con cáncer colorrectal y AOS tienen menor supervivencia global y supervivencia libre de progresión que los pacientes con cáncer colorrectal sin AOS.
Choi et al	2021	Mayor incidencia de cáncer de tiroides en pacientes con AOS.
Lee et al	2022	Mayor incidencia de leucemia en pacientes con AOS.
Chen et al	2022	- Alta prevalencia/incidencia de AOS moderado/grave en pacientes con cáncer de tiroides - Mayor agresividad de cáncer de tiroides en pacientes con AOS
Xiong et al	2022	Un índice de desaturación de oxígeno mayor a 5/h se relaciona con mayor afectación ganglionar en el cáncer colorrectal.
Campos-Rodriguez et al	2022	No encuentran relación entre datos poligráficos y datos de mayor malignidad del cáncer de próstata.
Palm et al	2023	- Relación entre gravedad de AOS y prevalencia de cáncer.

		- El ODI era especialmente alto en los pacientes con AOS y cáncer de pulmón, melanoma maligno y próstata con respecto a los pacientes con AOS sin cáncer.
Marriot et al	2023	No encuentran relación entre gravedad de AOS e incidencia de cáncer.
Lee et al	2023	No encuentran asociación entre IAH, ODI, CT90% con tipo histológico de cáncer, mutaciones del tumor, estadio o supervivencia en cáncer de pulmón.
Moriondo et al	2023	- Distinta expresión de micro-RNA en AOS y AOS con cáncer con respecto a resto. - Mayor proliferación y migración en las células de cáncer colorrectal expuestas a hipoxia intermitente, efecto que se reducía al inhibir la expresión del HIF-1α.
Cubillos-Zapata et al	2024	- Niveles elevados de PSPC1, MDK, PD-L1 y PD-1 en muestras sanguíneas de pacientes con AOS. - Mayor elevación de PSPC1, PD-L1, PD-1 y TGF-β1 en pacientes con cáncer de pulmón. - Existe relación entre niveles séricos de PSPC1, MDK, PD-L1 y PD-1 con el ODI y IAH.

Cho et al	2024	Existe asociación entre la gravedad de la AOS y el riesgo de cáncer de pulmón.
Ding et al	2024	Existe correlación entre la AOS y la aparición de NPS y nódulo tiroideo.
Theorell-Haglow et al	2024	No hay asociación entre la AOS y la incidencia de cáncer de cualquier estirpe o la mortalidad por patología neoplásica
Ferreira et al	2024	Menor supervivencia de pacientes con cáncer y AOS grave, especialmente si asocia hipoxemia nocturna.
Hallen et al	2024	- Existe asociación entre la gravedad de la AOS y el riesgo de cáncer. - Hay asociación entre niveles de endotelina y VCAM1 y riesgo de cáncer.

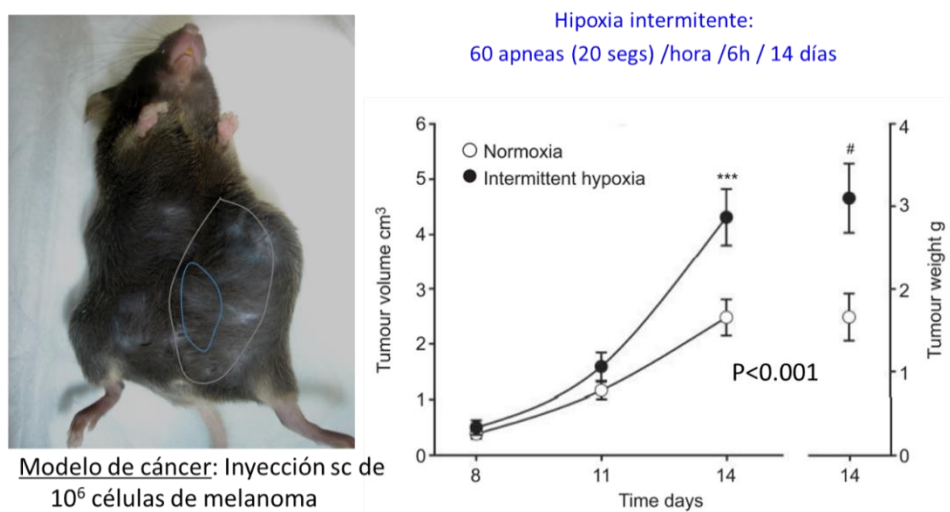
IAH: índice de apnea-hipopnea, AOS: apnea obstructiva del sueño, CT90%: porcentaje de tiempo de estudio con saturación inferior a 90%, ODI: índice de desaturación de oxígeno, micro-RNA: microácido ribonucleico, HIF-1 α : subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia, PSpC1: componente paraspeckle-1, MDK: midkina, PD-L1: ligando-1 de muerte celular programada, PD-1: Proteína de muerte celular programada 1, TGF β -1: factor de crecimiento transformante β 1, NPS: nódulo pulmonar solitario, VCAM1: molécula de adhesión celular vascular 1.

1.4 APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO Y MELANOMA

Pasaron 4 años desde la publicación del grupo de Martinive et al comentada anteriormente (41) –en la que se realizó un estudio celular in vitro con células de melanoma demostrando que la hipoxia producía una disminución de la apoptosis celular secundaria a la radioterapia- hasta que se publicó el primer trabajo en model animal, trabajo del grupo de Rofstad et al (90). En el estudio se inyectó 3.5×10^5 células de melanoma en flanco izquierdo de ratones de laboratorio, sometiendo posteriormente a un grupo a ciclos de hipoxia intermitente (12 ciclos de 10 minutos de FiO₂ al 0.08 seguidos de 10 minutos de un aire con FiO₂ al 0.21 durante 4 horas al día, todos los días de la semana, hasta que el tumor alcanzó un volumen de 100mm³) y al otro a una atmósfera normal. Demostraron que el grupo de ratones expuesto a hipoxia intermitente presentó un mayor número de micrometástasis pulmonares en probable relación a una mayor vascularización y perfusión tumoral (que atribuían a un aumento de expresión del factor de crecimiento endotelial vascular A en el tumor primario). Sin embargo, no hubo diferencias en cuanto al tiempo necesario para alcanzar el volumen estipulado como objetivo final (unos 13-16 días).

Fue el grupo de Almendros et al el primer equipo español en realizar un estudio en modelo animal (91). Publicado en enero del año 2012, en este trabajo se inyectó a 15 ratones macho 10^6 células de melanoma en tejido subcutáneo de flanco izquierdo y tras ello se expuso a la mitad de ellos a hipoxia intermitente y a la otra mitad a una atmósfera normoxémica. El tamaño del tumor fue medido, mediante medida externa, los días 8, 11 y 14 tras la inyección y tras el último día los ratones se sacrificaron y se realizó medición de peso directo de los tumores. Se observó que en los tumores sometidos a hipoxia intermitente el volumen del tumor era el doble en comparación con el considerado grupo control (**Figura 8**).

Figura 8. Hipoxia intermitente y crecimiento melanoma, modelo murino.



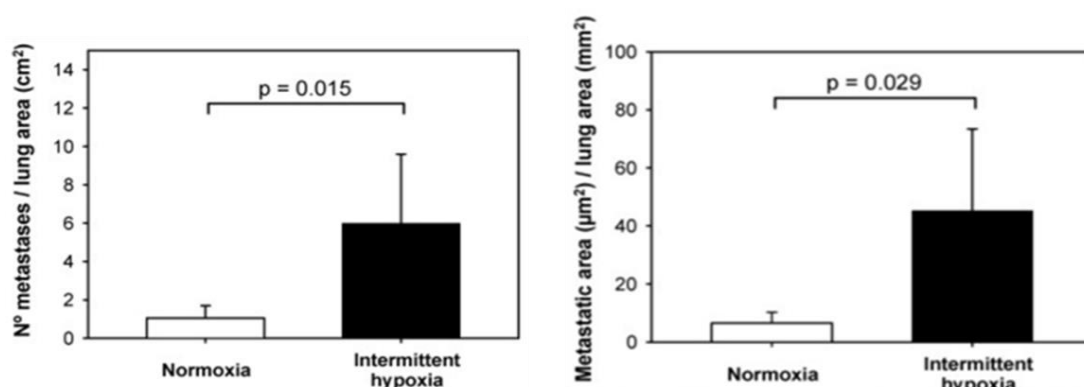
Con permiso de Almendros et al. Eur Respir J. 2012 Jan;39(1):215-7

A finales de ese mismo año, el mismo grupo de trabajo, publicó un estudio con un mayor número de ratones pues utilizaron 40 ratones (22 obesos y 18 delgados) a los que se les inyectó, del mismo modo que en el estudio anterior, 10^6 células de melanoma en tejido subcutáneo de flanco izquierdo. Tras ello, aproximadamente a la mitad de cada grupo (10 obesos y 9 delgados) fueron sometidos a ciclos de hipoxia intermitente durante 17 días mientras que a la otra mitad (12 obesos y 9 delgados) no. Al final del seguimiento los ratones fueron sacrificados, se pesaron los tumores, y se observaron mediante microscopio objetivando que en los ratones delgados se producía un mayor crecimiento tumoral al someterlos a hipoxia intermitente mientras que los obesos -que ya de por sí presentaron un mayor crecimiento tumoral que los delgados- no lo presentaron en estas condiciones con respecto al grupo de obesos no expuesto a ciclos a hipoxia; además, resultados similares se mostraron al realizar medición plasmática de VEGF en los cuatro grupos (92).

Ya en 2013, nuevamente el grupo de Almendros et al (93), publicaron un estudio que se llevó a cabo con 75 ratones de laboratorio a los que a la mitad se les introdujeron 10^6 células de melanoma en flanco izquierdo y a la otra mitad se les inyectó 10^5 células de melanoma en vena de la cola (para producir metástasis

inducidas en laboratorio). Tras ello, se expuso prácticamente a la mitad de los animales (37 roedores) a ciclos de hipoxia intermitente y a la otra mitad a una atmósfera con FiO₂ de 0.21 y observaron cómo en el grupo de ratones a los que se les inyectó células de melanoma en flanco izquierdo y se les sometió a hipoxia intermitente existía un mayor número de animales que presentaban metástasis pulmonares. Por el contrario, en el grupo de ratones a los que se indujeron las metástasis al inyectar las células de melanoma en vena de cola no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los expuestos a hipoxia y los que no se expusieron a estas condiciones (**Figura 9**).

Figura 9. Hipoxia intermitente y metástasis pulmonares en melanoma



Con permiso de Isaac Almendros et al. Respir Physiol Neurobiol. 2013 May 1;186(3):303-7

Ese mismo año, Eubank et al también encontraron que los ratones sometidos a hipoxia presentaban mayores niveles de ácido ribonucleico de la proteína premelanosómica 17 (pMEL 17 RNA) tanto en sangre como en tumores que reflejaba un incremento en la intravasación de las células tumorales y mayor afectación metastásica pulmonar (94).

En agosto del año 2014, se publicó un estudio realizado “in vitro” por el grupo de Olbryt et al que permitía reforzar más la asociación existente entre la hipoxia intermitente (y por tanto extrapolable a la apnea obstructiva del sueño) y la mayor capacidad de desarrollo vascular y de producir daño vía activación de la cascada inflamatoria, desde el punto de vista fisiopatológico, del melanoma

(siendo esta asociación también demostrada en el estudio, a nivel celular, en cáncer de próstata y de ovario) pues se observó que la expresión de una interleukina proinflamatoria como es la IL-8 y el VEGF, entre otros, era distinta en las células de las tres extirpes tumorales al ser sometidas a hipoxia crónica e intermitente (95).

También ese año, por parte del grupo de Martínez-García et al fue publicado el primer estudio prospectivo en humanos. Se trató de un estudio piloto, multicéntrico, en 56 pacientes con melanoma maligno cutáneo diagnosticados en 12 meses a los que se les realizó, en contexto del estudio, una poligrafía domiciliaria. Se constató no solo que la prevalencia de apnea obstructiva del sueño en estos pacientes era elevada, sino también que existía una mayor tasa de crecimiento del melanoma (calculada como el Índice de Breslow en milímetros del tumor en dos fechas dividido entre los meses transcurridos entre ambas mediciones) en pacientes con un IAH mayor 15 eventos/hora -compatible con AOS moderada por poligrafía- o mayor desaturación durante la noche (60).

También en humanos, Cohen et al, a finales del año 2015 publicaron un estudio basado en tres cohortes con un total de 880 pacientes con melanoma a los que se les interrogó sobre horas de sueño totales al día, sintomatología nocturna de apnea obstructiva del sueño (principalmente ronquidos) y antecedente de diagnóstico de AOS previo a 2008. En estas cohortes no se encontró relación alguna entre horas de sueño o sintomatología/diagnóstico previo de AOS y riesgo de desarrollar un melanoma. No obstante, cabe destacar que dos de las tres cohortes estaba formada únicamente por mujeres –una de ellas solo por mujeres jóvenes- y que la sintomatología nocturna y horas de sueño fueron preguntados en cuestionarios sin que se realizara a ninguno de los participantes un estudio nocturno validado para cerciorar objetivamente la información (63).

En 2016, dos grupos de trabajo mostraron resultados de estudios que nuevamente incidían en el conocimiento de la vía fisiopatológica de la asociación existente entre hipoxia, expresión de determinadas moléculas como respuesta al estrés generado y agresividad del melanoma, en ambos casos en ratones: Li et al dividieron a 24 ratones a los que se les había inyectado células de melanoma a través de vena de cola en tres grupos con número igual de roedores por grupo (un

grupo expuesto a normoxia, otro expuesto a hipoxia intermitente y un tercero expuesto a hipoxia intermitente y tras ello tratado con un antioxidante). Observaron como, tras tres semanas, el número de metástasis pulmonares de melanoma era mayor en el grupo expuesto a hipoxia intermitente, grupo que además mostraba unos mayores niveles de factor nuclear tipo eritroide 2 (NRF2, marcador de estrés oxidativo) y de factor nuclear potenciador de cadenas ligeras kappa de las células B activadas (Nf-Kb P65, marcador de inflamación) en tejido pulmonar (96). Por otra parte, Perini et al demostraron también, en un estudio con 12 ratones a los que se les indujo melanoma y tras ello a la mitad se les expuso a hipoxia intermitente, como en el grupo expuesto a hipoxia existía una mayor expresión de Caspasa-1 (involucrada en activación de inflamación y piroptosis), Ki-67, antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA, participa en la replicación del ADN celular y se considera como un índice de proliferación en neoplasias), HIF-1 α y el antígeno de diferenciación melanocítica Melan-A. No obstante, aunque en este grupo también la mediana del diámetro del tumor al final del experimento era un 50% mayor, no se alcanzó significación estadística para confirmar que al final del estudio existiera una diferencia en el tamaño del tumor en ambos grupos (97).

Por último, ese mismo año el grupo de Gozal et al publicó el estudio ya mencionado con anterioridad en el que se utilizó los datos una base de datos que incluía a 1700000 pacientes con diagnóstico de apnea obstructiva del sueño y 19927 con diagnóstico de melanoma observando una mayor incidencia de melanoma en los pacientes con AOS (también en riñón y páncreas como se ha indicado anteriormente) (64).

Un año más tarde se publicaría un nuevo estudio en ratones, esta vez por parte del equipo de Yoon et al, en el que como novedad, se dividió a los ratones a los que se les había inyectado células de melanoma tanto en tres grupos: uno con normoxia y dos con diferentes protocolos de hipoxia intermitente, uno que atribuyeron a modelo de AOS leve (10 ciclos por hora consistentes en 90 segundos de FiO₂ al 0.12 seguido de 270 segundos de atmósfera con FiO₂ al 0.21) y un segundo protocolo considerado por su parte como comparable a AOS moderada (20 ciclos por hora consistentes en 90 segundos de FiO₂ al 0.12 seguidos de otros 90 segundos con FiO₂ al 0.2). Así, objetivaron que el grupo cuyo protocolo era comparable a una AOS moderada presentó, a los 22 días, un mayor peso tumoral

y actividad transcripcional de HIF-1 α con respecto a los otros dos grupos (entre los que no existían diferencias significativas). Por tanto, el estudio mostró que existe un umbral de frecuencia de hipoxia intermitente que se asociaba, por ejemplo, a un mayor crecimiento tumoral (98).

También en el año 2017 se publicó un estudio multicéntrico, liderado por el grupo de Martínez-García et al, en el que tras analizar datos de 29 centros con un total de 376 biopsias de pacientes diagnosticados de melanoma (pese a que se recogieron datos de un total de 443 pacientes inicialmente únicamente se dispuso de muestra anatomopatológica en 376 pacientes), se reforzaría de manera contundente la asociación existente la expresión de HIF-1 α y la agresividad del melanoma en base a determinadas características del mismo. Sin embargo, en este caso no se pudo establecer relación alguna entre la expresión de VEGF y la agresividad del melanoma (38). Pese a que este estudio no muestra, pues no era su objetivo principal, asociación alguna entre la apnea obstructiva del sueño y el melanoma se ha incluido en este apartado porque un año más tarde se publicó por el mismo grupo de trabajo un nuevo estudio en el que, tras realizar a los 443 pacientes un estudio de sueño en los primeros 6 meses tras el diagnóstico del melanoma, también se pudo demostrar que existía una asociación entre la presencia y grado de AOS con la gravedad del melanoma en el momento del diagnóstico pues (67):

- Se encontró una prevalencia elevada de trastornos respiratorios del sueño (TRS) en estos pacientes (IAH>5 en el 65% e IAH>30 en el 15%), así como una relación independiente entre una mayor gravedad de los TRS medidos por el IAH, ID3% y el ID4% y mayor agresividad del melanoma.

- Existió más del doble de posibilidad de presentar un melanoma de elevada agresividad (valor de Breslow superior a la media) en los pacientes con un AHI >15 eventos/hora (lo que supone un diagnóstico por poligrafía de AOS moderada o grave) en comparación con el grupo con un número normal de eventos (IAH<5). También se obtuvieron resultados similares al utilizar el índice de desaturación al 4% (ID4%) e índice de desaturación al 3% (ID3%) como marcadores de gravedad de la AOS, aunque es cierto que esta asociación sólo fue significativa para los pacientes de menor edad (menores de 56 años).

- Por último, hubo una relación directa entre el IAH y el ID4% e ID3% con otros marcadores de agresividad del melanoma como son el índice de crecimiento, la presencia de regresión, la afectación del ganglio centinela o el índice de Clarke.

Tres grupos españoles más publicarían estudios con datos de estos pacientes en el año 2018 y principios de 2019, pues los tres equipos participaron en el estudio multicéntrico mencionado. Almendros et al , analizaron la expresión de VEGF e HIF-1 en las muestras histológicas de los 376 pacientes con melanoma maligno demostrando que existía también una asociación entre la elevada expresión de HIF-1 α con la edad, IAH, índice de desaturación al 4% e Índice de Breslow (99). Por otra parte, Cubillos-Zapata et al (100) y Santamaria-Martos (101) analizaron las 360 muestras sanguíneas disponibles de los pacientes objetivando que existía un mayor nivel de PD-L1 circulante en pacientes con AOS grave en comparación con el resto y unos mayores niveles de VCAM1 en el grupo AOS con respecto al no AOS respectivamente. Sin embargo, el grupo de Santamaria-Martos et al, no obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de VEGF en los pacientes con AOS de distinta gravedad con respecto al resto ni entre la velocidad del crecimiento del melanoma y los niveles de VCAM1.

Tras el verano de 2020 el grupo de Cubillos-Zapata et al también demostraría que existían unos mayores niveles en sangre de Midkina 1 (proteína que se expresa en varias neoplasias y que interviene tanto en la transformación y crecimiento celular, como en su migración y angiogénesis) en los pacientes con apnea obstructiva del sueño grave con respecto al resto (AOS de menor gravedad o pacientes sin AOS) y que, además, existía una asociación positiva entre los niveles de Midkina 1 con el índice mitótico y la tasa de crecimiento del melanoma (algo que no se observó con otros marcadores de agresividad del melanoma, como el Índice de Breslow). Y más allá, en un estudio in vitro, demostraron también que al añadir Midkina a células de melanoma se conseguía un aumento en su proliferación lo que permitía establecer una asociación clara entre la hipoxia y la agresividad del melanoma, también con esta proteína como intermediario (102).

Tres años más tarde, este mismo grupo, publicó un estudio en el que se analizaron las muestras sanguíneas de pacientes con melanoma que participaron en el estudio de Martínez-Garía et al de 2018 (67). En este caso, de

los 443 participantes, se obtuvieron muestras de suero de 360 sujetos pero, tras su uso con fines clínicos, se dispuso para el estudio de muestras de suero de 292 pacientes. Tras el análisis objetivaron que los pacientes con melanoma cutáneo y AOS moderada-grave tenían mayor probabilidad de presentar niveles séricos elevados de PSPC1, cuyos niveles además se relacionaban con datos de agresividad del melanoma como son el índice mitótico, la tasa de crecimiento, el Índice de Breslow, el índice de Clark, el estadio T o la afectación del ganglio linfático centinela (103).

Por último, se debe hacer un nuevo inciso pues se remite al lector en este momento al apartado “apnea obstructiva del sueño y cáncer” dónde ya se ha comentado tanto el estudio de 2018 del grupo de trabajo de Sillah et al (68), como el estudio del grupo de Palm et al de 2023 (80) ya que para evitar duplicar la información, no serán comentados nuevamente en este apartado pese a mostrar también un mayor riesgo de melanoma en pacientes con AOS o una mayor desaturación intermitente nocturna en pacientes con AOS y melanoma, respectivamente.

A continuación se expone de manera resumida la conclusión de cada uno de los estudios comentados con anterioridad así como el grupo de investigación que los llevó a cabo y el año de publicación (**Tabla 9**).

Tabla 9. Principales estudios que muestran la relación entre la hipoxia intermitente y melanoma.

Grupo de trabajo	Año	Modelo	Hallazgo
Martinive et al	2006	Celular in vitro	La hipoxia produce una disminución de la apoptosis celular secundaria a la radioterapia.

Rofstad et al	2010	Animal	- La HI favorece el desarrollo de micrometástasis pulmonares. - El VEGF-A aumenta en el tumor primario expuesto a hipoxia intermitente.
Almendros et al	2012	Animal	La HI produce un mayor crecimiento tumoral.
Almendros et al	2012	Animal	- Tanto obesidad como HI favorecen el crecimiento tumoral, sin efecto sinérgico entre ambos. - El VEGF es un mediador de crecimiento tumoral.
Almendros et al	2013	Animal	La HI favorece el desarrollo de micrometástasis pulmonares.
Eubank et al	2013	Animal	La HI propicia un incremento en la intravasación de las células tumorales y mayor afectación metastásica pulmonar.
Martinez et al	2014	Humano	- Alta prevalencia de AOS en pacientes con melanoma. - Relación directa entre IAH y desaturación nocturna con crecimiento del melanoma.
Olbryt et al	2014	Celular in vitro	La expresión de diferentes marcadores proinflamatorios

			es distinta según exposición a HI o hipoxia crónica.
Cohen et al	2015	Humano	No encuentran relación entre horas de sueño o sintomatología/diagnóstico previo de AOS y riesgo de desarrollar un melanoma.
Perini et al	2016	Animal	- Mayor expresión de Caspasa-1, Ki-67, PCNA, HIF-1α y antígeno Melan-A con la exposición a HI. - La HI no produce un mayor crecimiento del tumor.
Li et al	2016	Animal	- La HI predispone a un mayor número de metástasis pulmonares de melanoma. - Mayor niveles de NRF2 y NF-Kb P65 en tejido pulmonar en expuestos a HI.
Gozal et al	2016	Humano	- Mayor incidencia de cáncer de riñón, de páncreas y melanoma en pacientes con AOS. - Menor incidencia de cáncer de mama, próstata, colon y recto en pacientes con AOS.
Martinez et al	2017	Humano	- Existe asociación entre la expresión de HIF-1 α y la agresividad del melanoma

Yoon et al	2017	Animal	- Existe un umbral de frecuencia de hipoxia intermitente que se asocia a mayor crecimiento tumoral y mayor actividad transcripcional de HIF-1 α .
Sillah et al	2018	Humano	Mayor riesgo de presentar cáncer de riñón, mama, cuerpo uterino y melanoma en pacientes con AOS.
Martinez et al	2018	Humano	- Hay alta prevalencia de trastornos respiratorios del sueño en pacientes con melanoma. - Existe relación independiente entre mayor gravedad de los TRS y mayor agresividad del melanoma. - Una AOS moderada/grave predispone a presentar un melanoma de elevada agresividad al diagnóstico. - En menores de 65 años, una mayor frecuencia de hipoxia intermitente en poligrafía predispone a presentar un melanoma de elevada agresividad al diagnóstico. - Hay relación directa entre el IAH, el ID4% e ID3% con

			marcadores de agresividad del melanoma como el índice de crecimiento, la presencia de regresión, la afectación del ganglio centinela o el índice de Clarke.
Santamaria-Martos et al	2018	Humano	- Los pacientes con AOS presentan unos niveles más elevados de unos mayores niveles de VCAM1 en sangre. - No encuentran relación entre la velocidad del crecimiento del melanoma y los niveles de VCAM1.
Almendros	2018	Humano	- Existe asociación entre elevada expresión de HIF-1α con la edad, IAH, ID4% e Índice de Breslow.
Cubillos-Zapata et al	2019	Humano	Los pacientes con AOS grave presentan un mayor nivel de PD-L1 circulante.
Cubillos-Zapata et al	2020	Humano + in vitro	- Hay mayores niveles en sangre de Midkina 1 en los pacientes con AOS grave - Existe una asociación positiva entre los niveles de Midkina 1 con el índice mitótico y la tasa de crecimiento del melanoma.

			- In vitro, al añadir Midkina a células de melanoma se consigue un aumento en su proliferación.
Cubillos-Zapata	2023	Humano	- Hay mayores niveles de PSPC1 en pacientes con melanoma y AOS grave. - Hay correlación entre PSPC1 y marcadores de agresividad de melanoma.

VEGF: factor de crecimiento endotelial vacular, HI: hipoxia intermitente, AOS: apnea obstructiva del sueño, IAH (índice de apnea-hipopnea), PCNA: antígeno nuclear de células en proliferación, HIF-1 α (subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia), TRS: trastornos respiratorios del sueño, ID4%: índice de desaturación al 4%, ID3%: índice de desaturación al 3%), PD-L1: ligando-1 de muerte celular programada, VCAM1: molécula de adhesión celular vascular 1, NRF2: factor nuclear tipo eritroide 2, NF-Kb: factor nuclear kappa B, PSPC1: componente paraspeckle-1

Por tanto, queda ya demostrado en diferentes estudios tanto a nivel celular, como en animales y humanos la asociación existente entre la hipoxia intermitente que ocurre en los pacientes con apnea obstructiva del sueño y el desarrollo, crecimiento y migración sistémica de diferentes tumores y, especialmente del melanoma cutáneo maligno, así como con la esperanza de vida de los pacientes con esta y otras neoplasias. Y además, las vías fisiopatológicas han sido establecidas corroborándose cómo la hipoxia intermitente modifica la expresión de diferentes de diferentes genes lo que conlleva finalmente a cambios en los niveles tanto a nivel sanguíneo como tisular de diferentes moléculas que participan tanto como desencadenantes del proceso como intermediarios o resultado final del mismo.

II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En un estudio reciente transversal en 443 pacientes diagnosticados de melanoma cutáneo maligno, se observó que tener una AOS moderada o grave aumentaba el riesgo de presentar un tumor más agresivo en el momento del diagnóstico, entendiendo como tal aquel tumor con un Índice de Breslow mayor a 1mm (también se mostró correlación con otros marcadores histológicos de agresividad tumoral como presencia de ulceración, regresión, afectación de ganglio centinela o índice mitótico). Sin embargo, hasta la fecha, no existía ningún estudio longitudinal que evaluara el papel que jugaba la AOS y el tratamiento con CPAP en la evolución a largo plazo de los pacientes con melanoma cutáneo maligno. Por este motivo, este será el primer estudio que analiza el impacto de una AOS no tratada en el pronóstico de pacientes con melanoma cutáneo maligno así como el primero en establecer el papel que juega el tratamiento con CPAP en la evolución de estos tumores. Además, se centrará en la determinación de biomarcadores pronósticos lo que permitirá establecer un seguimiento personalizado en pacientes con este tipo de tumor en base a sus comorbilidades y resultados analíticos en el momento del diagnóstico conociendo así en cuáles de ellos es esperable un peor pronóstico.

III. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Nuestra hipótesis de trabajo se basa en que los pacientes con melanoma y mayor gravedad de la AOS presentarán un peor pronóstico debido a la diferente expresión de biomarcadores desencadenados por el efecto de la hipoxia intermitente en el tumor y, por ende, creemos también que este pronóstico podría ser modificado con la corrección de la hipoxia intermitente al resolver los eventos obstructivos durante el sueño con la CPAP.

IV. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

4.1 OBJETIVO PRIMARIO

Determinar la existencia de biomarcadores pronósticos en pacientes con melanoma cutaneo maligno y su relación con la presencia de una AOS y la adherencia a la CPAP.

4.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Analizar las características del melanoma dependiendo de la presencia de AOS.
- Determinar los factores independientes relacionados con un peor pronóstico del melanoma.
- Construir un score multidimensional para la valoración del pronostico del melanoma.
- Clasificar la gravedad del melanoma según los resultados de un score clinico-biológico.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio prospectivo, longitudinal y multicéntrico que incluyó a todos los pacientes diagnosticados de forma consecutiva de melanoma cutáneo maligno en 29 centros de España entre enero 2012 y enero 2015.

5.2 POBLACIÓN A ESTUDIO

5.2.1 Criterios de inclusión

Fueron incluidos los 443 pacientes con melanoma cutáneo maligno mayores de 18 años del anterior estudio transversal sobre la relación entre los trastornos respiratorios del sueño y los factores de agresividad del melanoma al diagnóstico ya comentado.

5.2.2 Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión fueron los mismos del estudio transversal previo:

- Insuficiencia respiratoria diurna.
- Insuficiencia cardíaca grave.
- Pacientes en tratamiento con CPAP previo a la inclusión en el estudio.
- Pacientes con melanomas extracutáneos.
- Pacientes con melanoma “in situ”.
- Pacientes con Índice de Breslow desconocido.

Además, fueron excluidos también aquellos pacientes en los que no fue posible un estudio de sueño. Sin embargo, no se excluyeron de este estudio los pacientes que, tras el estudio transversal, recibieron tratamiento con CPAP ni los que fueron diagnosticados de nuevas enfermedades cardiopulmonares en el seguimiento, pues la idea fue mantener en el estudio al mayor número de

pacientes posible para que los resultados pudieran ser aplicables a situaciones de la práctica clínica diaria “real-life study”.

5.3 DATOS BASALES

5.3.1 Valoración/anamnesis

El seguimiento fue conjunto, tanto por los Servicios de Dermatología como por las Unidades de Trastornos Respiratorios del Sueño de cada centro, de acuerdo con las guías vigentes de cada patología y con los protocolos de actuación de cada centro participante. La decisión de tratar y del tipo de tratamiento administrado al melanoma cutáneo maligno como de la AOS (si estaba presente) fue decidida por los facultativos especialistas de cada centro en base a las guías nacionales de cada patología.

Seguimiento dermatológico:

Fue realizado por uno de los dermatólogos participantes en el estudio de cada centro. Se realizó un mínimo de una visita cada 3 meses desde el momento de excisión de melanoma, siendo mensuales en los tres primeros meses. La información fue recogida tanto en la visita basal como durante el seguimiento mediante un protocolo estandarizado que incluía todo cambio significativo acaecido desde el diagnóstico de melanoma en lo referente a nuevas lesiones cutáneas, datos demográficos y generales, antecedentes de interés, factores de riesgo de cáncer cutáneo, presencia de diagnósticos relevantes tanto cutáneos como extracutáneos, nuevas exéresis de carcinoma basocelular o carcinoma epidermoide e historia de melanoma en familiares de 1ª línea generacional, así como un examen completo de piel en cada visita. Así mismo se determinaron las características fenotípicas que incluían la localización en el área fotoexpuesta y la localización anatómica de la lesión melánica maligna en caso de recidiva. Por último, también se recogió el dato temporal en meses del inicio de cambios de la lesión (volumen, simetría, en los bordes, en el color o en el aumento de diámetro)

o la aparición de síntomas, así como todos aquellos datos relacionados con la velocidad de crecimiento del melanoma.

Seguimiento en Unidades de Trastornos Respiratorios del Sueño:

Los pacientes a los que se les prescribió CPAP fueron seguidos por parte de neumología en las Unidades de Sueño correspondientes de forma habitual (mes 1, 3, 6 y 12 el primer año y anualmente después). Se recogieron de forma protocolizada datos correspondientes al seguimiento y tratamiento de la enfermedad.

5.3.2 Pruebas complementarias

5.3.2.1 -Estudio de sueño

El diagnóstico/exclusión de AOS se realizó mediante poligrafía domiciliaria o polisomnografía cuando fue necesario. En el caso de las poligrafías, se utilizó un dispositivo convenientemente validado en la literatura, que asegurase como mínimo la medición de los siguientes parámetros poligráficos u oximétricos: horas de registro, índice de apneas hipopneas (IAH), índice de apneas obstructivas (Iao), saturación basal, saturación media, saturación mínima, tiempo nocturno con saturación por debajo del 90% (CT90%) y índice de desaturaciones al 3% y 4%. Todas las lecturas se realizaron de forma manual y solo fueron dados como válidos aquellos estudios en los que el paciente refirió una cantidad de sueño subjetiva de al menos de 5 horas y con un mínimo de 5 horas de registro con una calidad suficiente una vez eliminados los periodos de registro errático. En caso contrario se procedió a la repetición de la prueba. Como control de calidad, todos los registros nocturnos completos de sueño fueron enviados a un experto en la lectura e interpretación de pruebas poligráficas que evaluó de forma centralizada e independiente todas las pruebas de sueño en el hospital La Fe de Valencia. Tras ello, en caso de detectar alguna anomalía (como fallo técnico o discordancia de lecturas), se contactó con los centros pertinentes para repetir, anular o tomar las decisiones oportunas al respecto.

5.3.2.2 Análisis bioquímicos. Justificación y procedimiento

En base a los estudios previos en los que se encontró cierta asociación entre hipoxia intermitente, AOS y cáncer, y los conocimientos de las vías fisiopatológicas de las moléculas que se estudiaron en los mismos, se optó por el análisis de SMAD3, SMAD 4, sPD-L1, midkina, TGF β -1, PSpC1, MMP2, VEGF, PGE2 y leptina.

5.3.2.2.1 -Justificación

SMAD3 y SMAD 4: son proteínas involucradas en las vías de señalización celular. Este grupo de proteínas se activan como respuesta a vías de señalización del TGF- β . Habitualmente las proteínas SMAD forman un complejo formado por dos SMAD reguladas por receptor y un SMAD 4 (SMAD mediadora común). El producto final de este complejo proteico se une al ADN celular siendo capaz de modificar la expresión de genes implicados en la proliferación y diferenciación celular lo que conlleva, como resultado final, a la inhibición de proliferación de células epiteliales y a la supresión tumoral.

Componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada (sPD-L1): es una proteína que actúa como mediadora en la respuesta inmunológica. Su principal función es evitar que los linfocitos T destruyan células sanas pues en las células en las que se expresa esta proteína se lleva a cabo una interacción con la proteína PD1 de éstos últimos que es interpretada como una señal de inhibición de destrucción celular mediada por los linfocitos T. En la actualidad, se ha demostrado que células tumorales de diferentes extirpes son capaces de expresar sPDL1 lo que les confiere una capacidad de evasión del sistema inmune y, por tanto, una mayor proliferación. Por este motivo, se ha desarrollado ya inmunoterapia frente a tumores que se centra en impedir esta unión PDL1-PD1 y con ello frena esta señal supresora de destrucción celular mediada por células T.

Midkina: es una citoquina con acción angiogénica potente involucrada también en procesos de reparación de tejido dañado y de supervivencia y diferenciación celular. Tal y como se ha mencionado en la introducción de este documento, sus

niveles se han relacionado con la AOS así como con la tasa de crecimiento e índice mitótico en melanoma y, en estudio in vitro, también se demostró que la adición de esta molécula a células con melanoma provocaba una mayor proliferación tumoral. Además, también se visto que en el caso de melanoma, la expresión de esta molécula predispone a una peor respuesta a terapia PD1.

Factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF β -1): participa en el control del crecimiento, proliferación celular, diferenciación celular y apoptosis. Sus principales efectos son la inhibición de la activación de células CD4 y CD8 quiescentes y la inhibición de la proliferación y de la apoptosis tanto de monocitos como de macrófagos. En cuanto a células B, tiene un papel inhibidor en la proliferación y la apoptosis de los linfocitos B e interviene en el control de la producción de anticuerpos y proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II. Por último, también interviene en la supresión de la actividad de las células inmunes mediante la disminución de la expresión de los receptores de algunas citoquinas.

Componente paraspeckle 1 (PSPC1): se trata de una proteína que funciona como un activador principal de la reprogramación metastásica al mediar la señalización autocrina prometastásica del factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- β 1)/SMAD2/3, lo que induce la transición epitelial-mesenquimal y la adquisición de características de las células madre cancerosas.

Metaloproteinasa de matriz-2 (MMP2): participa en la degradación de proteínas de la matriz extracelular (proceso involucrado en las metástasis de neoplasias) y del endotelio vascular. Interviene tanto en la reparación tisular como en procesos inflamatorios, tiene efecto vasoconstrictor y también está implicado en la angiogénesis y remodelación vascular pues su fragmento carboxi-terminal no catalítico posee propiedades antiangiogénicas (además de inhibir la migración celular).

Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF): de estas moléculas se ha profundizado ya con anterioridad en la introducción de esta Tesis Doctoral. Como se ha explicado, se trata de un conjunto de proteínas involucradas tanto en el

proceso de angiogénesis como en el de formación de nuevos vasos sanguíneos. Su relación tanto con la hipoxia intermitente como con el desarrollo/proliferación de tumores de distintas extirpes (neuroblastoma, mama, riñón o melanoma) ha sido demostrado en estudios previos.

Prostaglandina E2 (PGE2): tiene un papel determinante en procesos inflamatorios y en la respuesta inmune, así como un potente efecto vasodilatador. Es la principal prostaglandina implicada en la producción de tumores sólidos como neoplasia de mama, próstata o gastrointestinal. Los mecanismos de carcinogénesis son diversos: activación del factor de crecimiento epidérmico, activación de vía de oncogén Ras-MAPK, aumento de supervivencia de células tumorales al aumentar actividad del factor de proliferación de peroxisomas PPAR δ o modulación de la apoptosis, entre otros. Además, en situaciones de hipoxia tisular, es una de las moléculas implicadas en el aumento de factor inducible por hipoxia (HIF-1) que conlleva a un aumento de la angiogénesis mediante VEGF.

Leptina: es una hormona sintetizada principalmente en el tejido adiposo cuya principal acción es la de regular la homeostasis energética. No obstante, también promueve también la angiogénesis tanto de manera intrínseca como mediante el aumento de niveles de otras moléculas como citoquinas o VEGF lo que se relaciona con mayor progresión tumoral así como mayor capacidad invasiva y metastásica de las células tumorales. Por otra parte, los pacientes con AOS y obesidad presentan una resistencia a la leptina relacionada con la apnea obstructiva del sueño.

5.3.2.2.2 -Procedimiento

Las muestras en todos los casos fueron centrifugadas a 1000g durante 10 min antes de cada determinación. Todas las determinaciones se realizaron con kits comerciales. En cada una de ellas se ha seguido las instrucciones del fabricante y las mediciones de todas y cada una de ellas fueron realizadas por duplicado.

El análisis de la concentración de SMAD4 se realizó mediante ELISA SMAD4 (CSB-E12749 de CUSABIO, Houston Texas, TX), siguiendo las instrucciones del fabricante para todas las muestras. El límite de detección del ensayo fue de 6,25 pg/mL. La variación intraensayo fue inferior al 20%.

En los ensayos para evaluar PD-L1 soluble se utilizó ELISA sPD-L1 humana (ab214565, Abcam, Cambridge, Reino Unido) siguiendo las instrucciones del fabricante para todas las muestras. El límite de detección de los ensayos fue de 2,91 pg/mL, mientras que las variaciones intraensayo e interensayo fueron inferiores al 20%.

El análisis de la concentración de Midkine se realizó utilizando ELISA Midkine (CSB-E08892h; Cusabio, Houston, EE.UU.). El límite de detección fue de 7,8 pg/mL mientras que la variación intraensayo e interensayo fueron inferiores al 20%.

En el caso del TGF- β 1 se usó ELISA TGF_1 (LEGEND MAX™ Free Active TGF-1 ELISA Kit 437707 de BioLegend Inc., San Diego, CA, USA). El límite de detección fue de 7,8 pg/mL.

Para la evaluación del SMAD3 se utilizó ELISA SMAD3 (EH2148 from Fine Test, Wuhan, China), MMP9 (BMS2016-2 de Invitrogen, Vienna, Austria). El límite de detección fue de 0,375 ng/mL.

El análisis de concentración de PSPC1 se realizó mediante ELISA PSPC1 (MBS9324493 de MyBioSource, San Diego, CA, USA). El límite de detección fue de 31,2 ng/mL.

En cuanto al MMP2, su análisis fue realizado mediante ELISA MPP2 (KHC3081 de Invitrogen). El límite de detección fue de 0,15 ng/mL.

En los ensayos para evaluar VEGF se utilizó ELISA VEGF (Quansys Biosciences, USA). El límite de detección fue de 4,76 pg/mL.

El análisis de PGE2 se realizó mediante ELISA PGE2 (CEA538Ge, Cloud-Clone, USA). El límite de detección fue de 8,67 ng/mL.

Por último, en el caso de Leptina se utilizó ELISA LEPTIN (MBS9501873 MyBiosource, San Diego, USA. El límite de detección fue de 2,3 pg/mL.

5.4 VARIABLE DE ANÁLISIS FINAL DEL ESTUDIO (OUTCOME FINAL)

5.4.1 Muerte

De forma exhaustiva se hizo un seguimiento del estado vital de cada uno de los pacientes participantes en el estudio, no solo en base a la información obtenida durante el seguimiento de los mismos en las Unidades de Trastorno Respiratorios del Sueño y Servicios de Dermatología sino también mediante una revisión continua de otros registros médicos tanto hospitalarios como ambulatorios. Cuando un paciente fallecía, se recogió toda la información disponible tanto de la historia informática hospitalaria, en caso de fallecer en hospital, como de la historia ambulatoria o de los certificados oficiales de defunción en los casos restantes.

5.4.2 Recidiva

Se entendió como recidiva tumoral a la reaparición del melanoma, confirmado mediante estudio anatómo-patológico, en el mismo lugar o un lugar próximo en el que se diagnosticó inicialmente tras la excisión del melanoma inicial.

La detección de la recidiva tumoral se realizó mediante el diagnóstico de las mismas durante el seguimiento en las consultas médicas presenciales de los pacientes así como con un análisis estrecho de toda la información disponible en historia electrónica digitalizada de los pacientes, tanto ambulatoria como hospitalaria.

5.4.3 Metástasis

En cuanto a aparición de metástasis, se entendió como tal al desarrollo de un melanoma (confirmado mediante estudio anatómico-patológico) durante el seguimiento en una localización, órgano o tejido diferente al del diagnóstico inicial.

De la misma manera que en el caso de recidiva, la detección de metástasis tumoral se realizó también con el diagnóstico de las mismas en el seguimiento presencial de alguna consulta médica así como con una revisión sistemática de toda la información disponible en historia electrónica digitalizada de los pacientes, tanto hospitalaria como ambulatoria.

Además, también se revisaron de manera minuciosa todas las pruebas de imagen de cada uno de los pacientes realizadas desde el diagnóstico de melanoma cutáneo maligno e inicio del seguimiento.

5.4.4 Variable compuesta

Se consideró como variable de análisis final del estudio una variable compuesta de mal pronóstico del melanoma inicial como la primera aparición de algunos de los tres eventos anteriormente descritos: muerte por cualquier causa, recidiva tumoral y aparición de metástasis.

5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó, para los cálculos, un paquete estadístico (SPSS versión 21, EEUU, Inc).

Las variables cuantitativas se tabularon como media, desviación estándar y rango de valores cuando procedía, mientras que la cualitativas o dicotómicas lo fueron mediante el valor absoluto y porcentaje respecto al total. Para la determinación de la normalidad de las variables se utilizó el test de Kolgomorov-Smirnov. La comparación de las variables basales se realizó mediante la utilización de un test ANOVA de una sola vía en caso de más de dos grupos a

comparar o mediante la prueba t de Student en el caso de dos medias a comparar. En el caso de valores que no siguieran una distribución normal se siguieron las correspondientes pruebas no paramétricas.

El estudio multivariado fue realizado mediante un análisis de supervivencia de Cox considerando como variable dependiente la variable compuesta final y como independientes aquellas que aparecieron como estadísticamente significativas en el estudio multivariado y aquellas que fueron clínicamente significativas por los autores de la presente Tesis Doctoral aunque no fueran estadísticamente significativas. En este mismo sentido para la comparación entre diferentes grupos se utilizaron las curvas de kaplan-Meier.

En cuanto al cálculo del tamaño muestral, se estableció teniendo en cuenta los siguientes parámetros: se partía de 443 pacientes con melanoma procedente de 29 centros. La media del Índice de Breslow fue en aquel estudio de 1,6 mm, con un 40% de los pacientes con Breslow>2mm. La variable final compuesta, como ha sido comentado se estableció como: "recidiva de melanoma, muerte o presencia de metástasis. Se estimó que un 20-30% (según las publicaciones) de los pacientes presentaría alguna de las variables comentadas en los siguientes 5 años a su diagnóstico. Aceptando un error alfa de 0,05, una potencia estadística de 0,20, unas pérdidas máximas estimadas del 10% de pacientes, el número total de variables compuestas finales necesarias para la comparación de 3 grupos de pacientes (terciles formados a partir de los valores de IAH) a lo largo de 5 años de estudio fue de 32 por grupo. Todo esto supondría un total de 96 variables compuestas (considerando tan solo la primera de las variables compuestas que aparecía en cada paciente). En el caso de no alcanzar el tamaño muestral necesario para conseguir el tamaño muestral se tiene previsto alargar el estudio hasta la obtención del tamaño muestral necesario.

Finalmente, para la construcción del score multidimensional se dicotomizaron aquellas variables que fueron factores independientes de mal pronóstico de melanoma. El mejor punto de corte se obtuvo mediante la realización de una curva ROC. Una vez dicotimizadas todas las variables se volvieron a introducir en una regresión multivariada de Cox. La puntuación para cada variable dentro del score fue obtenida mediante el redondeo al alza de las

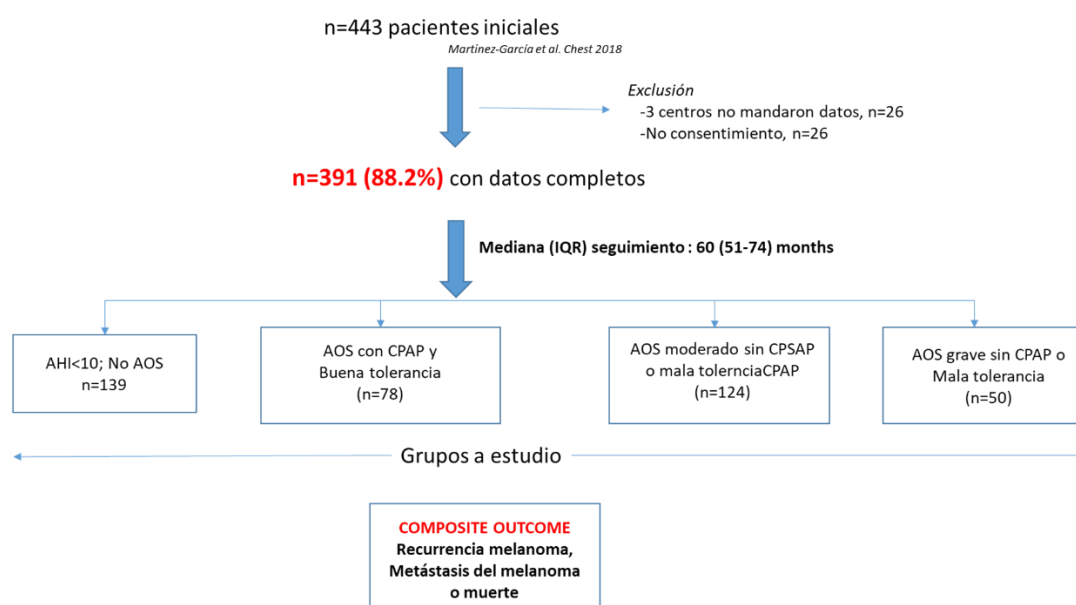
HR de cada una de ellas. El valor final del score se determinó como la suma de cada valor de la variable. Posteriormente, este valor final se dividió en terciles y se realizó una curva de Kaplan-Meier para valorar mediante el estadístico log-rank si existían diferencias estadísticamente significativas entre las curvas. En cualquier caso un valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

VI. RESULTADOS

6.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

De los 443 pacientes que finalizaron el estudio transversal previo se obtuvieron datos completos en 391 (88,2% del total) ya que 3 centros no enviaron datos de seguimiento, lo que motivó la exclusión de 26 pacientes, y otros 26 pacientes no aportaron su consentimiento el estudio actual (**figura 10**).

Figura 10. Descripción de la muestra y división en grupos en base a resultados de estudio de sueño y tratamiento.



6.2 CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA MUESTRA

Tal y como se muestra en la Tabla 10 la edad media fue de 65,1 (15,2) años siendo el 49% varones. El IMC medio fue 27,3 (4,5) kg/m² presentando el 23,5% obesidad (IMC≥30 kg/m. En cuanto al grado de somnolencia diurna, el test de Epworth medio fue de 6 (3-8) presentando un 18% un Epworth mayor a 10 (**tabla 10**).

6.2.1 Datos generales

Tabla 10. Características generales de los pacientes

Parámetros	N,%
Pacientes, nº (%)	391 (100%)
Sexo (% hombres)	49%
Edad, años	65,1 (15,2)
IMC, Kg/m ²	27,3 (4,5)
IMC≥30	104 (23,5%)
Circunferencia cervical, cm	37,7 (4,5)
Tabaquismo, paq/año, nº (%) (si >0)	17,2 (8-30)
Actual	19,5%
Pasado	32,2%
Nunca	51,5%
Alcohol, gramos/día (si>0)	16 (11-30)
Nunca	80,6%
Cáncer previo, (%)	8%
Enfermedad crónica respiratoria/cardiológica previa, (%)	8,4%
Roncopatía crónica (al menos 3 días/semana), (%)	64,8%
Número días/semana	3,8 (2,74)
Apneas presenciadas, (%)	21%
Test de Epworth	6 (3-8)
Epworth≥10	18%
Duración del sueño, horas	7,5 (1,1)
Menos de 6 horas	4,6%
Entre 6 y 8 horas	78,9%
Más de 8 horas	16,5%
Insomnio, (%)	8,6%
Saturación de oxígeno basal	97 (96-98)

Datos expresados como media (desviación estándar), porcentaje o como mediana (rango intercuartil).

Tabaquismo, consumo de alcohol, tiempo de estudio de sueño, test de Epworth, saturación de oxígeno diurna, están expresados como mediana (rango intercuartil).

nº: número, IMC: Índice de masa corporal, Kg: kilogramos, m: metro, cm: centímetros, paq/año: paquetes/año,

Las características basales del melanoma cutáneo maligno se pueden observar en la Tabla 11. El Índice de Breslow medio fue de 1,7 (2,5) mm y el 12,6% de los pacientes presentó afectación del ganglio centinela al diagnóstico. El subtipo de melanoma más frecuente fue el melanoma de extensión superficial (71,4%) y la gran mayoría de la muestra (87,5%) tuvo tumor en estadio localizado (tabla 11).

Tabla 11. Características basales del melanoma cutáneo maligno

Parámetros	N,%
Índice de Breslow (espesor en mm)	1,7 (2,5)
Ulceración, (%)	18%
Regresión, (%)	25%
Índice mitótico (mitosis/mm ²), no (%)	
0-1/mm ²	61,5%
>5 /mm ²	16,2%
Subtipo, (%)	
Melanoma de extensión superficial	71,4%
Melanoma nodular	15,9%
Léntigo maligno melanoma	6,2%
Melanoma lentiginoso acral	6,3%
Afectación de ganglio centinela, (%)	12,6
Ubicación anatómica, (%)	
Cabeza y cuello	15,2%
Tronco	41%
Miembros superiores	14,5%
Miembros inferiores	24,3%
Acral	4,7%
Estadio, (%)	
Localizado (I-II)	87,5%
Loco-regional (III)	10,5%
Metastásico (IV)	1,9%

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje. mm: milímetros

Tal y como se expone en la **Tabla 12** la mayor parte de estudios (71,4%) fueron poligrafías domiciliarias y el tiempo medio de registro fue de 7,3 (6,6-8) horas. El IAH medio fue de 14,6 (1,2) por hora, un 35,2% presentaron AOS al menos moderada y en un 14,6% se observó una AOS grave. El CT90% promedio fue de 0,69 (0,3-5,25) %.

Tabla 12. Características del sueño

Parámetros	N,%
Lugar del estudio del sueño, (%)	
Hospital	28,6%
Casa	71,4%
Tiempo de estudio del sueño, horas	7,3 (6,6-8)
IAH, no de eventos/hora	14,6 (1,2)
IAH $\geq$ 5	64,9%
IAH $\geq$ 15	35,2%
IAH $\geq$ 30	14,6%
IAH central, eventos/hora	0 (0-0,6)
ODI4%, nº de desaturaciones/hora	6,9 (2,1-12,3)
ODI3%, nº de desaturaciones/hora	9,1 (2,5-20,5)
Saturación de oxígeno mínima	86 (81-89)
Saturación de oxígeno nocturna promedio	93 (92-96)
Tsat90%	0,69 (0,3-5,25)

Datos expresados como media (desviación estándar), porcentaje o como mediana (rango intercuartil)

nº: número, IAH: Índice de apnea e hipopnea por hora, ODI4% y ODI3%: índice de desaturación del 4% y 3%, Tsat90%: porcentaje total de tiempo del registro en el que la saturación se encuentra por debajo del 90%

En cuanto a resultados analíticos (**Tabla 13**) los niveles medios de TGF β -1 fueron de 7,46 (9,3), los de SMAD4 de 226,7 (163,7), los de MDK 164,6 (149,3) y los de PSPC1 de 153,1 (137,9), todos ellos expresados en pg/mL. En cuanto a VEGF y SPD-L1, sus valores medios fueron de 54,8 (41,2) pg/mL y 82,2 (66,5) pg/mL respectivamente. Aquellos en negrita fueron los que estaban por encima de las concentraciones ofrecidas por el laboratorio

Tabla 13. Resultados analíticos

Molécula	Nivel medio
Leptina, ng/ml	3,63 (1,65)
TGF β-1, pg/ml	7,46 (9,3)
SMAD4, pg/ml	226,7 (163,7)
SMAD3, pg/ml	1,6 (2,1)
VEGF, pg/ml	54,8 (41,2)
MDK, pg/ml	164.6 (149,3)
sPD-L1, pg/ml	82,2 (66,5)
PSPC1, ng/ml	153,1 (137,9)
MMP2, ng/ml	21,5 (8,4)
PgE2, pg/ml	237,4 (136,3)

Datos expresados como media (desviación estándar).

ng: nanogramos, ml: mililitro, pg: picogramos.

TGF β -1: factor de crecimiento transformante β 1, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, MDK: midkina, sPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada, PSPC1: componente paraspeckle-1, MMP2: metaloproteinasa de matriz 2, Pg: prostaglandina

Durante el seguimiento apareció la variable compuesta final del estudio en el 29,7% de los pacientes: un 13,3% de ellos fallecieron, un 8,2% presentaron recidiva del melanoma y un 13,6% presentaron metástasis (**Tabla 14**).

Tabla 14. Descripción de eventos

Variables de resultado	% del total de pacientes
Variable compuesta final	29,7%
Muerte por todas las causas	13,3%
Recidiva de melanoma	8,2%
Metástasis de melanoma	13,6%

Como se aprecia en la **Tabla 15**, no hubo durante el seguimiento un cambio ponderal significativo: IMC al seguimiento de 28,1 (4,7) kg/m². Además, se inició tratamiento con CPAP en el 32,7% de pacientes con una presión media de 8.8 (1.6) mmHg. El Epworth al seguimiento fue de 5,6 (3,6).

Tabla 15. Características de seguimiento de los pacientes

Parámetros de seguimiento	N,%
IMC, Kg/m ²	28,1 (4,7)
Inicio de CPAP, %	32,7%
Presión media titulada, mmHg	8,8 (1,6)
Cumplimentación media, %	60,9%
Test de Epworth	5,6 (3,6)

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje.
Kg: kilogramo, m: metro, mmHg: milímetros de mercurio.

6.2.2 Características comparativas de los datos basales de los grupos a estudio

En la **Tabla 16** se muestran los datos basales de los cuatro grupos estudiados. Se puede apreciar que, mientras en el grupo con IAH<10 existía un predominio de mujeres (pues el 36% fueron hombres), tanto en el grupo de AOS moderada sin CPAP como en el de AOS grave sin tratamiento como en el grupo con tratamiento con CPAP el predominio fue de hombres (un 51%, 58% y 75% respectivamente). En cuanto al IMC, todos los grupos presentaban sobrepeso por índice de masa corporal medio sin llegar a criterios de obesidad en ninguno de ellos: siguiendo el mismo orden que anteriormente el IMC medio fue de 25,2 (3,6) kg/m², 28 (4,5 kg/m²), 29 (4,0) kg/m² y 29,4 (4,7) kg/m² respectivamente.

Finalmente, a destacar que mientras que en grupo con IAH<10/h como en el de AOS moderada no tratada el número de pacientes con diabetes mellitus fue bajo (7,1% y 8,1% respectivamente), el porcentaje de pacientes con diabetes mellitus aumentó hasta un 22% en la AOS grave sin tratamiento con CPAP y hasta un 16,9% en el grupo de pacientes con AOS en tratamiento con CPAP.

Tabla 16. Características basales de los cuatro grupos estudiados

Variable	AHI<10 (n= 139)	AOS moderada sin CPAP (n=124)	AOS grave sin CPAP (n=50)	AOS con CPAP (n=78)	P (ANOVA) valor
Edad, años	46,3 (13,0)	58,4 (14,0)	65,3 (11,8)	64,3 (12,8)	<0,001
Sexo, % hombres	36%	51%	58%	75%	<0,001
IMC, kg/m²	25,2 (3,6)	28 (4,5)	29 (4)	29,4 (4,7)	<0,001
Tabaquismo, paq/año	7,9 (12,7)	10,1 (16,9)	11 (16,9)	12,9 (20,9)	0,207
Neoplasia cutánea previa, %	5,7%	11,3%	18%	12,9%	0,072
Enfermedad respiratoria crónica previa, %	6,4%	10,5%	8%	6,5%	0,627
Diabetes mellitus, %	7,1%	8,1%	22%	16,9%	0,008

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje. IMC: índice de masa corporal, Kg: kilogramos, m: metro.

En la **Tabla 17**, se puede observar cómo existía una relación entre diferentes marcadores de agresividad de melanoma y gravedad de AOS presentando los pacientes con un IAH inferior a 10 un Índice de Breslow medio de 1,1 (1,1) mm frente al Índice de Breslow medio de los pacientes con AOS grave

no tratada de 3,4 (4,8) mm, por ejemplo. En cuanto a los pacientes con AOS y correcta adherencia a CPAP, su Índice de Breslow medio fue de 1,6 (1,7 mm).

Tabla 17. Características del melanoma por grupos estudiados

Variable	AHI<10 (n= 139)	AOS moderada sin CPAP (n=124)	AOS grave sin CPAP (n=50)	AOS con CPAP (n=78)	P (ANOVA) valor
Índice de Breslow, mm	1,1 (1,1)	1,8 (2,3)	3,4 (4,8)	1,6 (1,7)	<0,001
Estadio localizado, %	90%	81,5%	62%	92,3%	<0,001
Afectación de ganglio centinela, %	8%	12%	32%	7%	<0,001

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje. mm: milímetros.

En cuanto a las características del sueño por grupos estudiados, como era esperable, los pacientes con una AOS grave no correctamente tratada con CPAP presentaban un mayor que el grupo los grupos de pacientes con IAH inferior a 10/h o con una AOS moderada no tratada: CT90% del 12,8 (16,7)% frente a 1,2 (4,9)% y 4,8 (12,3)% respectivamente (**Tabla 18**).

Tabla 18. Características del sueño por grupos estudiados

Variable	AHI<10 (n= 139)	AOS moderada sin CPAP (n=124)	AOS grave sin CPAP (n=50)	AOS con CPAP (n=78)	P (ANOVA) valor
SO2 nocturna media	94,9 (1,6)	93,7 (1,9)	92,8 (2,2)	91,8 (8)	<0,001
IAH, eventos/hora	2,1 (1,5)	10,1 (3,7)	31,2 (9,9)	32,6 (19,5)	<0,001
ODI3%	3,7 (6,5)	15,9 (20,3)	29,2 (11,5)	30,9 (19)	<0,001
Saturación de O2 mínima	88,4 (5,8)	83,8 (5,8)	77,7 (10,8)	78,2 (12,3)	<0,001
Tsat90%	1,2 (4,9)	4,8 (12,3)	12,8 (16,7)	11,4 (16,7)	<0,001

Datos expresados como media (desviación estándar). IAH: índice de apneas e hipopneas por hora, O2: oxígeno, ODI3%: índice de desaturación del 3%, Tsat90%: porcentaje total de tiempo del registro en el que la saturación se encuentra por debajo del 90%

Centrándonos en los resultados analíticos por grupos estudiados, como puede apreciarse en la **Tabla 19**, se observó que tanto TGF β -1, MDK, sPD-L1 y PSPC1 aumentaban de manera proporcional al IAH. Sin embargo, mientras que en el caso de MDK, sPD-L1 y PSPC1 se objetivó una disminución de sus valores en el grupo de AOS tratada con CPAP con respecto al de AOS grave no tratada, esta corrección parcial con la introducción de tratamiento no se presentó en el caso del TGF β -1.

Tabla 19. Resultados analíticos por grupos estudiados

Variable	AHI<10 (n= 139)	AOS moderada sin CPAP (n=124)	AOS grave sin CPAP (n=50)	AOS con CPAP (n=78)	P (ANOVA) valor
Leptin, ng/ml	4,5 (1,9)	3,6 (1,4)	4,1 (1,5)	3,7 (1,6)	0,259
TGF β-1, pg/ml	6,2 (7,9)	6,4 (8,1)	6,5 (8,1)	7,01 (6,8)	0,0001
SMAD4, pg/ml	205,1 (168,2)	232,8 (160,7)	226,8 (146,6)	254,4 (171,1)	0,335
SMAD3, pg/ml	1,7 (2,3)	1,6 (2,2)	1,2 (1,59)	1,5 (1,6)	0,686
VEGF, pg/ml	51,6 (41,1)	56,3 (37,8)	62,3 (43,7)	44,6 (5,5)	0,572
MDK, pg/ml	110 (125,1)	141,5 (123,6)	249,4 (187,5)	212,9 (150,1)	0,0001
sPD-L1, pg/ml	68,6 (49,9)	69,2 (46,7)	129,4 (113)	94,3 (64,5)	0,0001
PSPC1, ng/ml	111,3 (83,1)	161,7 (134,6)	240,1 (190,5)	169,1 (162,4)	0,0001
MMP2, ng/ml	22,3 (8,19)	20,9 (8,29)	21,7 (8,8)	20,9 (9,29)	0,596
PgE2, pg/ml	235,2 (140,9)	246,7 (139,4)	204,6 (113,9)	242,5 (136,4)	0,559

Datos expresados como media (desviación estándar).

ng: nanogramos, ml: mililitro, pg: picogramos.

TGF β -1: factor de crecimiento transformante β 1, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, MDK: midkina, sPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada, PSPC1: componente paraspeckle-1, MMP2: metaloproteinasa de matriz 2, Pg: prostaglandina

En cuanto a la aparición de eventos en cada uno de los grupos, tal y como se muestra en la **Tabla 20**, se observó también un aumento proporcional de cada una de ellas en relación al IAH (apareciendo por tanto de manera más frecuente en el grupo con AOS grave no tratada en el que se produjeron un 20% de recidivas de melanoma y hasta un 34% de metástasis o 38% de fallecimientos, frente al grupo con IAH<10% en el que únicamente se produjo un 4% de recidivas, un 7,2% de metástasis y en el que las muertes disminuyeron hasta el 5%). De la misma manera, este exceso de riesgo en pacientes con AOS se corregía con un tratamiento correcto con CPAP observando en el grupo tratado un 9% de recidivas, un 7,7% de metástasis y un 8% de muertes por cualquier causa.

Tabla 20. Descripción de eventos por grupos estudiados.

Variables	AHI<10 (n= 139)	AOS moderada sin CPAP (n=124)	AOS grave sin CPAP (n=50)	AOS con CPAP (n=78)	P (ANOVA) valor
Variable compuesta final	15,7%	34,7%	72%	19,5%	<0,001
Muerte por todas las causas	5%	16,9%	38%	8%	<0,001
Recidiva de melanoma	4%	7,3%	20%	9%	<0,001
Metástasis de melanoma	7,2%	16,1%	34%	7,7%	<0,001

Por último, en la **Tabla 21** se puede apreciar como en el grupo de OAS moderada y grave sin correcto tratamiento a CPAP el número de horas de uso de CPAP por día estaba muy por debajo de lo considerado como el mínimo indispensable de 4h/noche siendo en cada uno de los grupos de 0,7 (0,6) h/noche y 1,4 (1,2) h/noche respectivamente lo que contrasta con las 6,1 (1,1) h/noche del grupo con AOS y correcta adherencia a CPAP. Además, también se puede observar cómo no existe un cambio en IMC al final del seguimiento con respecto al inicio del mismo (se remite nuevamente a tabla **Tabla 16** Características basales de los cuatro grupos estudiados) persistiendo todos los pacientes con sobrepeso con aumento proporcional a IAH en los grupos de AOS moderada sin CPAP, AOS grave no tratada y AOS con CPAP y normopeso en el grupo de IAH<10/h).

Tabla 21. Características de seguimiento de los cuatro grupos estudiados

Variable	AHI<10 (n= 139)	AOS moderada sin CPAP (n=124)	AOS grave sin CPAP (n=50)	AOS con CPAP (n=78)	P (ANOVA) valor
IMC, kg/m² al final	25,3 (3,7)	27,8 (4,6)	29 (3,7)	29,8 (4,6)	<0,001
Inicio de CPAP, %	0%	3%	41%	57%	<0,001
Uso de CPAP, horas/día	--	0,7 (0,6)	1,4 (1,2)	6,1 (1,1)	<0,001
Test de Epworth	6,1 (3,6)	5,7 (3,6)	5,1 (3,6)	5,1 (3,6)	0,332

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje.

IMC: índice de masa corporal, kg: kilogramos, m: metro, IAH: índice de apneas e hipopneas por hora, CPAP: presión positiva continua en la vía aérea.

6.2.3 Análisis comparativo entre el grupo con y sin eventos

Como se muestra en la **Tabla 22** la edad media de los pacientes que presentaron la variable compuesta final fue de 60,2 (16,3) años y en el grupo sin aparición de la variable compuesta final de 54,4 (14,4) años.

En cuanto a diabetes mellitus, el 17,2% de los pacientes del grupo con la variable compuesta final la presentaron frente al 8,7% del grupo sin la variable compuesta final.

Tabla 22. Comparación de características basales en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte)

Variable	Con la variable compuesta final n=116	Sin la variable compuesta final n=275	p valor
Edad, años	60,2 (16,3)	54,4 (14,4)	0,001
Sexo, mujeres %	41%	52%	0,055
IMC, Kg/m ²	27,7 (4,4)	27,2 (4,6)	0,321
Tabaquismo, paq/año	10,5 (16,4)	9,8 (16,6)	0,741
Neoplasia cutánea previa, %	13,7%	9,1%	0,166
Enfermedad respiratoria crónica previa, %	9,5%	7,3%	0,461
Diabetes Mellitus, %	17,2%	8,7%	0,011

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje.

IMC: índice de masa corporal, kg: kilogramos, m: metro, paq: paquete.

En la **Tabla 23** se pueden observar las principales características del melanoma cutáneo maligno en el momento del diagnóstico tanto en el grupo con la variable compuesta final como en el grupo sin la variable compuesta final. En este aspecto, en el grupo con la variable compuesta final presentó un Índice de Breslow medio al diagnóstico de 3,3 (3,8) mm mientras que en el grupo sin la variable compuesta final el valor medio fue de 1,1 (1,2) mm. Por otra parte, en el grupo de pacientes con aparición de la variable compuesta final un 57,6% pacientes presentaron un melanoma de extensión superficial, se objetivó afectación de ganglio centinela en un 56,9% del total de pacientes y el diagnóstico fue en estadio localizado en un 56% de casos. En cuanto al grupo sin la variable compuesta final, los porcentajes fueron de 74,5%, 0% y 98,2% respectivamente.

Tabla 23. Características del melanoma en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte)

Características del melanoma al diagnóstico	Con la variable compuesta final n=116	Sin la variable compuesta final n=275	p valor
Índice de Breslow, mm	3,3 (3,8)	1,1 (1,2)	<0,001
Melanoma de extensión superficial, %	57,6%	74,5%	<0,001
Afectación de ganglio centinela, %	56,9%	0%	<0,001
Estadio localizado, %	56%	98,2%	<0,001

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje.
mm: milímetros.

Los principales parámetros del sueño al momento del diagnóstico del melanoma cutáneo maligno tanto en el grupo con aparición de la variable compuesta final como en el grupo de pacientes sin variable compuesta final se muestran en la **Tabla 24**.

En este sentido, el Epworth medio del grupo con la variable compuesta final fue de 6,7 (3,9) y en el grupo sin la variable compuesta final de 5,6 (3,3). En cuanto a datos de pulsioximetría nocturna, el ODI3% en el grupo con la variable compuesta final fue de 20,8 (19,9)/h y la SO2 mínima en este grupo fue de 81,5 (9,6)%. En el grupo sin la variable compuesta final estos valores fueron de 14,3 (18,1)/h y 84,4 (8,9)% respectivamente.

Tabla 24. Características del sueño en el grupo con y sin la variable de resultado compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte)

Parámetros del sueño al diagnóstico	Con la variable compuesta final n=116	Sin la variable compuesta final n=275	p valor
Test de Epworth	6,7 (3,9)	5,6 (3,3)	0,007
ESS>10	26,7%	11,3%	0,0001
Saturación de O2 basal	97,1%	97,1%	0,961
Saturación de O2 nocturna media	93,6%	93,7%	0,767
IAH, eventos/hora	20,4 (19,5)	11,8 (13,4)	<0,001
IAH central, eventos/hora	1,5 (3,2)	1 (4)	0,223
ODI3%	20,8 (19,9)	14,3 (18,1)	0,002
Saturación de O2 mínima	81,5 (9,6)	84,4 (8,9)	0,004
Tsat90%	7,5 (13,5)	5,2 (12,6)	0,107

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje.

EES: escala Epworth de somnolencia, O2: oxígeno, IAH: índice de apneas e hipopneas por hora, CPAP: presión positiva continua en la vía aérea, ODI3%: índice de desaturación del 3%, Tsat90%: porcentaje total de tiempo del registro en el que la saturación se encuentra por debajo del 90%

En cuanto a resultados analíticos tanto del grupo con la variable compuesta final como en el grupo sin aparición de la variable compuesta final a reseñar que el SMAD4 en el grupo con la variable compuesta final fue de 269,3 (166,6) pg/mL y en el grupo sin la variable compuesta final de 201,1 (166,9) pg/mL, el VEGF en el primer grupo fue de 77,8 (53,4) pg/mL y en el segundo de 41,1 (23,7) pg/mL y, por último, el sPD-L1 en el grupo con la variable compuesta final fue de 108,2 (82,5) pg/mL y en los pacientes sin la variable compuesta final de 64,8 (39,9) pg/mL (**Tabla 25**).

Tabla 25. Resultados analíticos en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte)

Parámetros del sueño al diagnóstico	Con la variable compuesta final n=116	Sin la variable compuesta final n=275	p valor
Leptin, ng/ml	3,7 (1,5)	3,7 (1,8)	0,975
TGF β -1, pg/ml	9,1 (10,7)	6,9 (9,19)	0,118
SMAD4, pg/ml	269,3 (166,6)	201,1 (166,9)	0,003
SMAD3, pg/ml	1,58 (1,7)	1,62 (2,4)	0,880
VEGF, pg/ml	77,8 (53,4)	41,1 (23,7)	0,0001
MDK, pg/ml	175,7 (120,6)	161,7 (160,3)	0,572
sPDL-1, pg/ml	108,2 (82,5)	64,8 (39,9)	0,0001
PSPC1, ng/ml	170,6 (120,4)	143,5 (146,7)	0,146
MMP2, ng/ml	22,5 (8)	21,9 (88,6)	0,564
PgE2, pg/ml	224,4 (127,5)	246,5 (143,1)	0,248

Datos expresados como media (desviación estándar).

ng: nanogramo, ml: mililitro, pg: picogramo. TGF β -1: factor de crecimiento transformante β 1, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, MDK: midkina, sPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada, PSPC1: componente paraspeckle-1, MMP2: metaloproteinasas de matriz 2, Pg: prostaglandina

Para finalizar el análisis univariado, en la **Tabla 26** se muestra como en el grupo de aparición de la variable compuesta final se inició CPAP en un 31% de los pacientes con una cumplimentación media de 3,8 (2,5) horas y en el grupo sin la variable compuesta final se prescribió CPAP al 14% de los pacientes y la cumplimentación media fue de 5,7 (1,9) horas.

Tabla 26. Comparación de características al seguimiento en el grupo con y sin la variable compuesta final (recidiva del tumor, metástasis o muerte)

Variable	Con la variable de resultado n=116	Sin la variable de resultado n=275	p valor
IMC, Kg/m ²	27,9 (3,7)	27,7 (4,6)	0,680
Inicio de CPAP	31%	14%	<0.001
Presión media titulada, mmHg	8,9 (0,9)	8,7 (1,1)	0,570
Cumplimentación media, %	3,8 (2,5)	5,7 (1,9)	0,002
Test de Epworth	5,8 (3,4)	5,5 (3,7)	0,387

Datos expresados como media (desviación estándar) o porcentaje. IMC: índice de masa corporal, CPAP: presión positiva continua en la vía aérea, mmHg: milímetros de mercurio.

6.2.4 Análisis multivariado

Se realizó un análisis de supervivencia de Cox en el que la variable dependiente era la aparición del evento y las independientes aquellas que resultaron diferentes de forma estadísticamente significativas o clínicamente relevante en el estudio bivariado, en concreto edad, género, presencia de diabetes mellitus, índice de masa corporal, Índice de Breslow, Grupos de AOS-CPAP, la ausencia de tratamiento radioterápico/quimioterápico del tumor y los

biomarcadores: SMAD4, VEGF y sPD-L1. En la Tabla 27 se observa como tan solo las variables: falta de QT/RT, grupos de AOS-CPAP (en concreto la AOS moderada-grave sin CPAP), el Índice de Breslow al diagnóstico, y los biomarcadores al diagnóstico VEGF y sPD-L1 resultaron tener una asociación independiente con la variable compuesta final.

Tabla 27. Análisis de Cox. Variables asociadas de forma independiente con la variable compuesta final.

Variable	B	OR	IC95%	p
Falta de QT/RT	1,84	5,9	1,5-22,7	0,01
Grupos AOS				
-No AOS	-	-	-	-
-AOS moderada sin CPAP	1,38	3,6	1,3-10,4	0,017
-AOS grave sin CPAP	2,32	9,8	2,3-41,3	0,002
-AOS con CPAP	0,71	2,1	0,65-6,5	0,213
Índice de Breslow (mm)	0,52	1,6	1,2-2,2	0,005
VEGF (pg/ml)	0,03	1,04	1,02-1,05	0,0001
sPD-L1 (pg/ml)	0,02	1,02	1,01-1,02	0,0001

QT: quimioterapia, RT: radioterapia, AOS: apnea obstructiva del sueño, CPAP: presión positiva continua en la vía aérea, mm: milímetros, pg: picogramos, ml: mililitro, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, sPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada.

Para la construcción del score se dicotomizaron las variables cuantitativas para encontrar el mejor valor pronóstico, mediante la realización de curvas ROC. En este caso el mejor punto de corte en el VEGF fue de 70, en sPD-L1 fue de 70 y en el Índice de Breslow fue de 2 puntos. De igual forma fue escogido solo el

grupo de AOS moderada-grave sin CPAP dicotomizado como grupo de mayor riesgo.

Con estos valores se volvió a realizar el modelo de regresión logística

6.2.5 Construcción del score clínico-biológico

En la **Tabla 28** se muestran, por tanto, las diferentes odds ratio de las variables que se asociaron de forma independiente (Falta de QT/RT, AOS moderada-grave sin CPAP, Índice de Breslow > 2 mm, VEGF >70 pg/ml y SPDL-1 >70 pg/ml) con la variable compuesta final tras dicotomización de las variables cuantitativas.

Tabla 28. Análisis de Cox. Variables asociadas de forma independiente con la variable compuesta final tras dicotomización de las variables cuantitativas

Variable	B	OR	IC95%	p
Falta de QT/RT	1,03	2,3	1,5-5,2	0,001
AOS moderada-grave sin CPAP	0,50	1,7	1,02-2,68	0,04
Índice de Breslow > 2 mm	0,87	2,8	1,5-3,9	0,0001
VEGF >70 pg/ml	0,63	1,9	1,13-3,11	0,014
SPDL-1 >70 pg/ml	0,455	1,13	1,04-1,9	0,04

QT: quimioterapia, RT: radioterapia, AOS: apnea obstructiva del sueño, CPAP: presión positiva continua en la vía aérea, mm: milímetros, pg: picogramos, ml: mililitro, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, SPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada.

Para la construcción del score se redondeó al alza el valor del OR asignando así un peso ponderado a cada variable, cuya suma total fue de 10 puntos como aparece en la **Tabla 29**.

Tabla 29. Score clínico-biológico pronóstico

Variable	Valor (en puntos)
Índice de Breslow >2 mm	3
Falta de QT o RT	2
OSA moderada-grave sin CPAP	2
VEGF >70 pg/ml	2
sPDL1 >70 pg/ml	1
TOTAL	10 puntos

mm: milímetros, QT: quimioterapia, RT: radioterapia, AOS: apnea obstructiva del sueño, CPAP: presión positiva continua en la vía aérea, pg: picogramos, ml: mililitro, VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, sPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada.

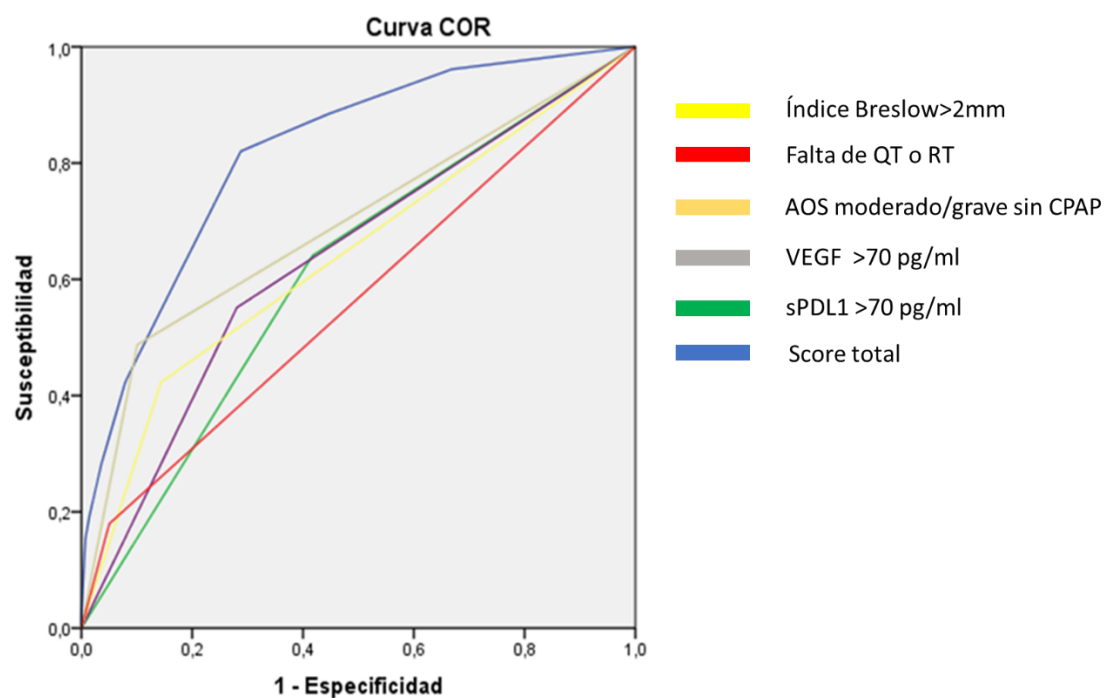
Atendiendo a este Score se calcularon las diferentes áreas bajo la curva de cada componente por separado del mismo así como del valor del propio score como se observa en la **Tabla 30** y en la **Figura 11**. Destacar el área bajo la curva de score final, que fue de 0,817.

Tabla 30. Valores de cada componente individual del score y del score final

Variables	Área bajo la curva ROC
Score final	0,817
sPDL1 >70 pg/ml	0,612
VEGF >70 pg/ml	0,693
Grupos control	0,635
Índice de Breslow>2 mm	0,640
Falta de QT o RT	0,565

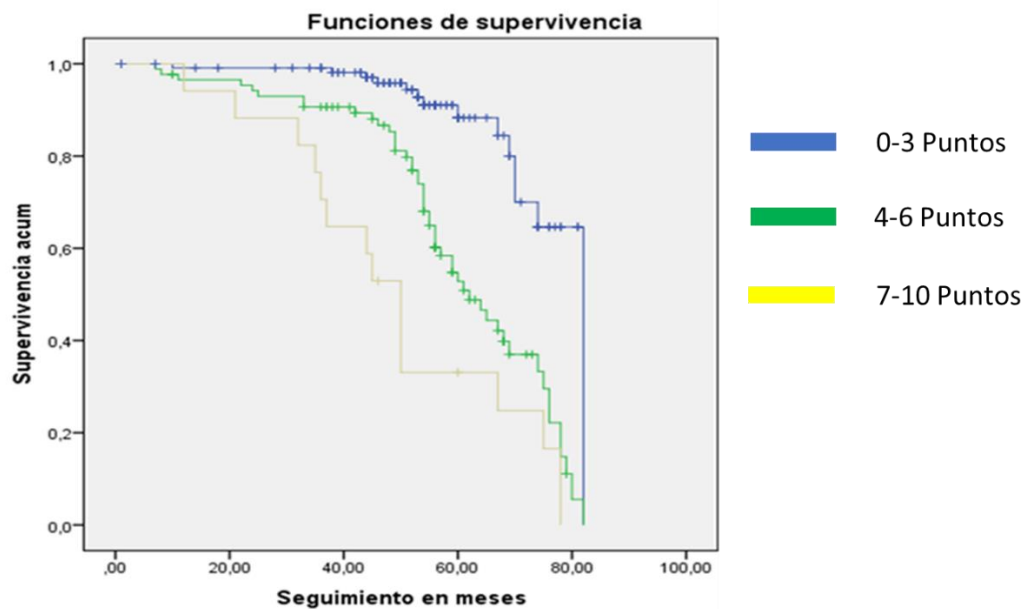
VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, sPD-L1: componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada.

Figura 11. Curvas ROC de los valores de cada componente individual del score y del score final



Finalmente, se dividieron los 10 puntos del score en terciles (entre 0-3 puntos, 4-6 puntos y de 7-10 puntos) y se realizó una curva de Kaplan-Meier para valorar (log-rank test) la **diferencia pronóstica** entre los distintos terciles del score (**Figura 12**) y así valorar la existencia de grupos de gravedad. Se encontró que en el grupo de 0-2 puntos la variable compuesta final aparecía en un 12,4% frente a un 56,3% en el grupo de 3-6 puntos y un 88,2% en el grupo de 7-10 puntos.

Figura 12. División por terciles de los valores del score y capacidad pronóstica de los mismos (log-rank test 42,018; $p < 0,0001$)



0-3 puntos: Buen pronóstico; 4-6 puntos: pronóstico moderado; 7-10: Pronóstico grave

VII. DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio prospectivo realizado sobre 391 pacientes con melanoma cutáneo maligno indican que el pronóstico del mismo (compuesto por la variable compuesta recidiva, metástasis o muerte) se asocian entre otras (falta de utilización de tratamiento específico y el Índice de Breslow), tanto a la presencia de AOS moderada-grave no tratada con CPAP como a la elevación de dos moléculas clave como son el VEGF y el sPD-L1. Sin embargo, el tratamiento con CPAP en aquellos casos con AOS moderada-grave disminuye el riesgo de estos pacientes al nivel del grupo control.

Además, con estas variables asociadas de forma independiente con la variable compuesta principal, tras dicotomizarlas, es posible calcular un score (puntuación) total de 10 puntos en el que a más puntuación, mayor es el riesgo de que aparezca la variable principal con un área bajo la curva ROC superior al 80% (capacidad pronóstica excelente), y en cualquier caso superior al poder pronóstico de cada uno de sus componentes por separado. Finalmente, la división en tertiles de los 10 puntos del score permite dividir esta puntuación en un riesgo pronóstico bajo (entre 0-2 puntos), moderado (entre 3-6 puntos) y elevado (entre 7-10 puntos)

En los datos generales de los 391 pacientes ya se puede observar cómo al ser una muestra de pacientes diagnosticados de melanoma y que no que acuden a las Unidades de Sueño como consecuencia de sospecha clínica, sus características difieren mucho de estos últimos pacientes. Así, se trata de pacientes con un 50% de mujeres con un IMC bajo, solo algo más de un 64% de roncopatía y un índice de Epworth bajo (sobre 6 puntos). Valores semejantes nos encontramos en los estudios que analizan la relación entre la AOS y las enfermedades cardiovasculares (104-105) cuando los enfermos proceden de unidades cardiovasculares. Sobre todo, llama la atención la escasa clínica de

hipersomnias que tienen (y en general la escasa sospecha clínica de AOS) en relación al elevado número de trastornos respiratorios del sueño. Por ejemplo, en nuestra muestra casi el 65% de los pacientes padecía una AOS mientras que el 15% una AOS grave con un IAH medio de 14,6 (AOS casi moderada), muy por encima de lo esperable en la población general, a pesar de que es conocido que incluso en la población general la prevalencia de AOS es elevada (21). Este hallazgo, además, siendo conocedores de que el IMC (un parámetro de que se asocia de forma lineal con el IAH) (106) fue tan solo de 27 Kg/m², lo que supone tan solo un ligero-moderado sobrepeso. Algo semejante se podría comentar del insomnio que era padecido tan solo por un 8,6% de los pacientes cuando es conocido que es mucho más elevado en pacientes con AOS (107).

7.1 CARACTERÍSTICAS BASALES CLÍNICAS SEGÚN GRUPOS DE AOS

En cuanto a las características del melanoma, es necesario reconocer que no se ajustan a la verdadera realidad de este tumor por los criterios de exclusión realizados como los melanomas in situ que son un porcentaje elevado de los mismos (108) como los melanomas de mucosas (en este caso con baja frecuencia) (109). Por ello, la mayor cantidad de melanomas encontrados fueron del subtipo extensión superficial que son los que poseen un Índice de Breslow menor y muy pocos metastásicos (1,7%). El resto de variables aparecidas son las típicas relacionadas con la aparición del melanoma o sus complicaciones, como el grado de exposición solar, los antecedentes familiares o la disposición en cabeza y cuello (110). Al diagnóstico ya un 12% de los melanomas presentaban una extensión al ganglio centinela, signo de mal pronóstico. La elección del

melanoma cutáneo como cáncer a estudio, como ya ha sido comentado, es por su facilidad de ser observado (salvo en el cuello cabelludo o zonas con mucho pelo), de objetivar su progresión en tamaño o cambio de aspecto o de valorar sus recidivas (30). Además, parece, según los múltiples estudios realizados (posiblemente la relación entre el melanoma y la AOS sea la más estudiada entre los tumores que tenemos información que lo relaciona tanto a nivel molecular, celular, en modelos animales, en estudios epidemiológicos, en cohortes de base clínica y en cohortes de pacientes con melanomas (111). Sin embargo, no todos son ventajas dado que el tratamiento del melanoma es uno de los que más ha evolucionado en los últimos años, con múltiples fármacos biológicos que tanto de forma solitaria como combinada han conseguido la regresión incluso de múltiples metástasis sistémicas (112), por lo que son una importante variable de confusión a la hora de valorar el presente estudio. Este hecho viene avalado como tras un seguimiento de más de 60 meses de mediana, el número de muertes fue del 13,3%, de recidivas del 8,2% y de metástasis del 13,6% muy por debajo de lo esperable hace años con un cáncer tras agresivo con el melanoma, sin duda gracias a las campañas de protección solar y a los nuevos fármacos ya comentados (113).

Al evaluar los resultados del análisis univariado aparecen unos resultados bastante lógicos en su conjunto. Al valorar las características basales de los pacientes según la presencia de AOS su gravedad y el tratamiento con CPAP se observa que a mayor gravedad de la AOS, mayor edad, mayor IMC, mayor número de hombres, mayor porcentaje de factores de riesgo cardiovascular como la diabetes y, como dato llamativo, mayor porcentaje de neoplasia (no solo melanoma) cutánea previa (114). Este hecho, sin embargo, en un análisis

univariado puede ser explicado a que estos resultados no han sido ajustados por el resto de factores que son de riesgo tanto para AOS como para la neoplasia como puede ser la edad (115) o la presencia de un incremento en el IMC (116). Más llamativo resulta que en aquellos que toleraron bien la CPAP ya se observa un descenso en el porcentaje de tumores cutáneos por debajo de los AOS graves y a la altura solo de los moderados, con una edad e IMC semejante a los AOS graves. Sin embargo, nuevamente, estos resultados hay que analizarlos con cautela al ser un análisis univariado.

De la misma forma podríamos concluir al analizar las características del melanoma según la presencia y gravedad de la AOS y CPAP. Así, a mayor gravedad de la AOS mayor Índice de Breslow (mayor agresividad del melanoma), menor porcentaje de estadios localizados y mayor porcentaje de afectación de los ganglios centinela (llegando a un 32%) en los AOS grave. Sin embargo, de nuevo, se podría pensar que pudiera ser atribuible a la mayor edad que aparece a mayor gravedad de la AOS (117). Nuevamente es muy curioso observar que a pesar de tener la misma edad media los AOS moderados y graves sin CPAP y los AOS graves con CPAP, estos últimos presentan parámetros de Índice de Breslow, estadios localizados y afectación del ganglio centinela semejantes a aquellos sin AOS (IAH<10 eventos/hora)

Finalmente, y con la misma comparación de grupos con/sin AOS y CPAP, se observó como a mayor gravedad de la AOS sin CPAP mayor porcentaje de variable compuesta y sus componentes: muerte, recidiva y metástasis. Aunque nuevamente no se puede descartar el carácter confusor que puedan jugar variables como la edad o el IMC.

7.2 CARACTERÍSTICAS BASALES CLÍNICAS SEGÚN LA VARIABLE COMPUESTA RESULTADO

En este sentido se compararon las variables clínicas tanto relacionadas con la AOS como con el melanoma con la variable resultado compuesta final. También se observaron resultados lógicos como que aquellos con la presencia de la variable resultado presentaban una mayor edad, y otros no tan lógicos como que el porcentaje de diabetes era estadísticamente superior (118). En este sentido, en la misma cohorte de pacientes, nuestro grupo estudió la relación entre la presencia de diabetes tipo 2 y algunos marcadores de agresividad del melanoma cutáneo, un factor que ya se había asociado a un incremento en la incidencia de melanoma pero no de su agresividad (119). Se observó que el diagnóstico de diabetes más incluso que el control glucémico o el tratamiento con metformina, se asociaba a datos de mayor agresividad inicial del melanoma como por ejemplo un Índice de Breslow mayor (sobre todo mayor a 2-4 mm), a mayor afectación del ganglio centinela y mayor número de mitosis en el estudio microscópico y tumores en estadios III-IV después de ajustar los resultados por edad, alcohol, obesidad, sexo, y hábito tabáquico.

Obviamente, los pacientes con la variable resultado positiva presentaron mayor afectación del ganglio centinela y menos melanomas de afectación superficial o menos estadios localizados. Finalmente, más intrigantes son los resultados de los valores relacionados con la AOS y la presencia de la variable compuesta resultado, dado que estos pacientes presentaron de forma significativa casi el doble de IAH y de desaturación nocturna pero no diurna intermitente, y mayor hipersomnia, lo cual parecía exceder la diferencia de edad entre ambos grupos que no llegaba a 6 años de diferencia (mientras que la diferencia de edad

entre los no AOS y los AOS grave era mayor de 10 años). En cualquier caso, nuevamente hay que volver a insistir en que se trata de un análisis univariado en un estadio de valoración univariado por lo que no pueden extraerse conclusiones validas de asociación.

7.3 VARIABLES DE SEGUIMIENTO

También fueron valoradas las variables de seguimiento tanto durante como al final del estudio. Este hecho es importante en algunas variables como el IMC para que su cambio, si existiese, deba de ser tenido en cuenta en el análisis multivariado como variable de confusión. Este análisis del seguimiento también tiene que ver con la prescripción y utilización de la CPAP a lo largo del tiempo. Por un lado, observamos como tras 60 meses de seguimiento el IMC no cambió significativamente en ninguno de los grupos de AOS ni en referencia a que llevaran o no CPAP, así como tampoco en relación a la presencia o no de la variable compuesta final. Lo mismo podría decirse del valor de la hipersomnia según el índice de Epworth.

En cuanto al uso de la CPAP, se consiguió al final del estudio en el 57% de los pacientes con AOS con un uso medio al día en estos pacientes de 6,1 horas; sin embargo, en el resto de pacientes la cumplimentación no subió en cualquier caso de 1,5 horas por día. En relación a la presencia de la variable compuesta resultado, se consiguió el inicio de la CPAP en el 31% de los pacientes pero con una cumplimentación media que no superaba las 4 horas diarias, mientras que en el grupo sin la variable compuesta resultado el grado de cumplimentación fue de 5,7 horas al día.

7.4 ANÁLISIS UNIVARIADO DE BIOMARCADORES

Uno de los análisis más novedosos de la presente Tesis Doctoral es el análisis de biomarcadores, algunos de los cuales también se asocian tanto a la AOS como al melanoma por ser más inespecíficos. Es de resaltar que no existe un biomarcador hasta el momento específico de AOS (120) a diferencia de otras como el infarto de miocardio (121) o algunos tumores (122). Su elección fue debida a la presencia de estudios que pueden relacionar estos biomarcadores con algunos tumores o con AOS.

Quizá, antes de analizar los resultados valga la pena analizar uno por uno de forma resumida la función de cada uno de estos biomarcadores y por qué fueron elegidos:

SMAD3 y SMAD 4: Son proteínas involucradas en las vías de señalización celular. Este grupo de proteínas se activan como respuesta a vías de señalización del TGF- β . Modifican la expresión de genes implicados en la proliferación y diferenciación celular lo que conlleva, como resultado final, a la inhibición de proliferación de células epiteliales y a la supresión tumoral. Estos fueron seleccionados porque se cree que el desarrollo del melanoma metastásico requiere la transición dinámica de las células neoplásicas entre fenotipos proliferativos e invasivos. Contrariamente a este modelo convencional de "cambio de fenotipo", ahora se supone que la progresión de la enfermedad puede involucrar células de melanoma maligno que presentan simultáneamente propiedades proliferativas e invasivas. Utilizando un modelo genético murino de melanoma en combinación con análisis in vitro de líneas celulares de melanoma,

se observó que la delección condicional de la molécula de señalización dependiente SMAD4, que anula toda la señalización canónica de TGF β , inhibe tanto el crecimiento tumoral como la metástasis. Sin embargo, la delección condicional del factor de señalización inhibidor SMAD7 generó células altamente invasivas y proliferativas, lo que indica que la invasividad es compatible con una alta tasa de proliferación. De hecho, la delección condicional de SMAD7 condujo al crecimiento sostenido del melanoma y, al mismo tiempo, promovió la formación masiva de metástasis, un resultado consistente con los datos que indican que los niveles bajos de SMAD3 y 4 en los tumores de los pacientes se asocian con una baja supervivencia (123).

Componente soluble del ligando 1 de muerte celular programada (sPD-L1): Su principal función es evitar que los linfocitos T destruyan células sanas pues es interpretada como una señal de inhibición de destrucción celular mediada por los linfocitos T. En la actualidad, se ha demostrado que células tumorales de diferentes extirpes son capaces de expresar sPD-L1 lo que les confiere una capacidad de evasión del sistema inmune y, por tanto, una mayor proliferación. Este biomarcador fue seleccionado fundamentalmente por la publicación de un artículo en el que observó que la AOS regula positivamente la vía del receptor de muerte celular programada 1 y su ligando (PD-L1), lo que podría comprometer la inmunovigilancia, comparando los niveles circulantes de PD-L1 soluble (sPD-L1) en pacientes con melanoma cutáneo según la presencia y gravedad de AOS, y evaluando las relaciones con la agresividad e invasividad tumoral. En un estudio observacional multicéntrico, 360 pacientes con melanoma cutáneo se sometieron a estudios del sueño y se analizaron los niveles séricos de sPD-L1 mediante ELISA. Los índices de agresividad del melanoma cutáneo incluyeron la tasa

mitótica, el Índice de Breslow, la ulceración tumoral, el nivel de Clark y el estadio tumoral, y la metástasis del ganglio linfático centinela (GLC) que se registraron como marcadores de invasividad. Los niveles de sPD-L1 fueron más altos en la AOS grave en comparación con la AOS leve o los pacientes sin AOS. En pacientes con AOS, los niveles de sPD-L1 se correlacionaron con el Índice de Breslow y fueron más altos en pacientes con ulceración tumoral, estadios tumorales primarios avanzados o con enfermedad locorregional. La incorporación de sPD-L1 a los factores de riesgo clásicos de metástasis en el ganglio centinela (GLC) condujo a mejoras netas en la clasificación del 27,3 %. Por lo tanto, los niveles de sPD-L1 están aumentados en pacientes con melanoma y AOS grave y, además, podrían servir como un posible biomarcador de la agresividad e invasividad del melanoma cutáneo en este grupo de sujetos (100).

Midkina: Es una citoquina con acción angiogénica potente. Sus niveles se han relacionado con la AOS así como con la tasa de crecimiento e índice mitótico en melanoma. La selección de este marcador viene determinada por un estudio realizado en esta misma cohorte de pacientes. Así, Midkina (MDK) podría mediar el efecto proangiogénico de la hipoxia intermitente (HI) en pacientes AOS y melanoma cutáneo. Se comparó en el estudio los niveles de MDK circulante en pacientes con melanoma con y sin AOS, y su relación con la agresividad tumoral, mientras se exploró los efectos in vitro de MDK soluble en la proliferación de células endoteliales linfáticas humanas (HLEC) y de melanoma. En 360 pacientes con CM, se realizaron estudios del sueño y mediciones del nivel sérico de MDK. El efecto de MDK en la proliferación celular se evaluó utilizando líneas celulares HLEC y de melanoma con sueros de pacientes tanto en normoxia como en hipoxemia intermitente. Los niveles de MDK fueron más altos en AOS grave en

comparación con AOS leve o pacientes sin AOS, mientras que no aparecieron diferencias en los niveles de VEGF. En pacientes con AOS, los niveles de MDK se correlacionaron con la hipoxemia nocturna y la tasa mitótica del melanoma. In vitro, MDK promueve la proliferación de HLEC en condiciones de hipoxemia intermitente. Además, los cultivos de la línea celular de melanoma humano C81-61 con sueros de pacientes con los niveles más altos de MDK promovieron la proliferación de células tumorales, la cual se atenuó tras la adición del anticuerpo MDK. Estas respuestas se vieron potenciadas por la exposición a la hipoxemia intermitente. En conclusión, en este estudio se observó que, en pacientes con melanoma, la gravedad de la AOS se asocia con niveles más altos de MDK, lo que parece potenciar tanto la linfangiogénesis como la agresividad intrínseca de las células tumorales de MC (102).

Factor de crecimiento transformante β -1 (TGF β -1): Participa en el control del crecimiento, proliferación celular, diferenciación celular y apoptosis. Interviene en el control de la producción de anticuerpos. Por último, también interviene en la supresión de la actividad de las células inmunes mediante la disminución de la expresión de los receptores de algunas citoquinas. Este biomarcador fue seleccionado porque TGF β -1 activo, una citocina parcialmente regulada por la hipoxia y la obesidad, se ha relacionado con un mal pronóstico en varios tumores. En un estudio se determinó si la AOS aumentaba los niveles séricos de TGF β -1 activo en pacientes con melanoma cutáneo, se evaluó su relación con la agresividad del melanoma y se analizó los factores relacionados con los niveles de TGF β -1 en pacientes con AOS, obesos y no obesos. Fue un estudio observacional y multicéntrico, con 290 pacientes con melanoma que se sometieron a estudios del sueño. El TGF β -1 aumentó en pacientes con AOS

moderada-grave en comparación con pacientes con AOS leve o sin AOS y melanoma. En pacientes con AOS, los niveles de TGF β -1 se correlacionaron con el índice mitótico, el Índice de Breslow y la tasa de crecimiento del melanoma, y aumentaron en presencia de ulceración o niveles de Clark más altos. En pacientes con melanoma, la AOS se asoció con niveles más altos de TGF β -1 y mayor agresividad del melanoma solo en sujetos no obesos. Un modelo in vitro mostró que el aumento de la expresión de TGF β -1 inducido por hipoxemia intermitente en células de melanoma se atenúa en presencia de niveles elevados de leptina. En conclusión, los niveles de TGF β -1 se asociaron con la agresividad del melanoma en pacientes con melanoma y aumentaron en pacientes con AOS moderada-grave. Además, en pacientes no obesos con AOS, los niveles de TGF β -1 se correlacionaron con la gravedad de la AOS y los niveles de leptina, mientras que en pacientes obesos con AOS solo se asocian con los niveles de leptina (124).

Componente paraspeckle 1 (PSPC1): Este biomarcador fue seleccionado dado que en el estudio de Cubillos et al se observó como esta molécula es inducida por la hipoxia intermitente en pacientes con AOS. Así, en pacientes con AOS, la hipoxia intermitente induce la sobreexpresión del componente PSPC1, un modulador clave de la señalización del factor de crecimiento transformante (TGF β), que promueve la progresión del cáncer celular mediante la transición epitelio-mesenquimal (TEM) y la adquisición de características similares a las de las células madre cancerosas (CMC). Sin embargo, se desconoce la persistencia de los efectos de la hipoxia intermitente sobre PSPC1 y sus consecuencias en pacientes con cáncer. En este estudio se compararon los niveles circulantes de PSPC1 en pacientes con melanoma cutáneo con o sin AOS, y se evaluó su relación con la agresividad tumoral, junto con los efectos in vitro de PSPC1 soluble

e hipoxia intermitente sobre los mecanismos de agresividad celular del melanoma. En 292 pacientes con melanoma cutáneo, se evaluaron estudios del sueño y los niveles séricos de PSPC1 y TGF β . Se evaluó el efecto de PSPC1 sobre la expresión de factores de transcripción de EMT y CSC utilizando líneas celulares de melanoma con suero de pacientes en condiciones de normoxia e hipoxia intermitente. Los niveles de PSPC1 fueron mayores en pacientes con AOS moderada-grave en comparación con pacientes con AOS leve o sin AOS. Los niveles séricos de PSPC1 se asociaron con varios indicadores de agresividad clínica del melanoma cutáneo. Tanto la exposición a hipoxia intermitente como el suero de pacientes con AOS aumentaron la expresión de TGF β y amplificaron la expresión de factores de transcripción asociados con la activación de EMT y la adquisición de características de CSC. Es decir, en pacientes con melanoma cutáneo, la gravedad de la AOS se asocia con mayores niveles séricos de PSPC1, lo que, junto con la hipoxia intermitente, potenciaría la capacidad de autorreprogramación de las células de melanoma para la adquisición de características de EMT y CSC, promoviendo su agresividad intrínseca (103).

Metaloproteinasa de matriz-2 (MMP2): Participa en la degradación de proteínas de la matriz extracelular (proceso involucrado en las metástasis de neoplasias) y del endotelio vascular. Interviene tanto en la reparación tisular como en procesos inflamatorios, tiene efecto vasoconstrictor y también está implicado en la angiogénesis y remodelación vascular. La familia de las metaloproteinasas de matriz (MMP) desempeña un papel fundamental en el inicio y la progresión del melanoma. Se ha demostrado que MMP prominentes, como MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-13 y MMP-14, contribuyen significativamente al desarrollo del melanoma. El microambiente tumoral, en particular la matriz extracelular

(MEC), se ha convertido en un factor crítico en la modulación de la progresión del cáncer (125).

Por otro lado, algunos autores refieren que algunas MMP son biomarcadores de AOS como MMP-2 y MMP-9, si bien parece serlo mucho más la MMP-9. Así, se investigó la asociación entre los niveles séricos de metaloproteinasa de matriz (MMP)-2 y MMP-9 y la gravedad de la AOS, centrándose en la hipoxemia nocturna.

Los pacientes con AOS ($n = 105$) fueron reclutados de una cohorte prospectiva de apnea del sueño tras polisomnografía, con 27 voluntarios sanos como controles. La gravedad de la AOS se evaluó mediante el índice de apnea-hipopnea (IAH) y el porcentaje de tiempo nocturno con $SpO_2 < 90\%$ (CT90%). Los niveles séricos de MMP-9 fueron significativamente mayores en los pacientes con AOS ($IAH \geq 5/h$, $68,8 \pm 44,9$ ng/mL) que en los controles ($49,0 \pm 18,6$ ng/mL, $p < 0,001$). Los niveles de MMP-2 no mostraron diferencias significativas. Al agruparse en cuartiles CT90%, los niveles de MMP-9 fueron mayores en los pacientes con AOS en el cuartil más alto en comparación con los del cuartil más bajo o los controles ($90,6 \pm 56,3$ ng/mL frente a $56,9 \pm 31,9$ ng/mL, $p = 0,022$; $90,6 \pm 56,3$ ng/mL frente a $49,0 \pm 18,6$ ng/mL, $p = 0,002$, respectivamente). Los niveles de MMP-9 se correlacionaron con CT90% y el IAH ($r = 0,36$, $p < 0,001$; $r = 0,35$, $p < 0,001$, respectivamente). La regresión lineal múltiple confirmó una asociación significativa entre MMP-9 y CT90% tras ajustar por índice de masa corporal, tabaquismo y comorbilidades ($\beta = 0,53$, $p = 0,013$). Se observó una asociación similar para el IAH ($\beta = 0,48$, $p = 0,019$) (126).

Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF): Conjunto de proteínas involucradas tanto en el proceso de angiogénesis como en el de formación de nuevos vasos sanguíneos. Su relación tanto con la hipoxia intermitente como con el desarrollo/proliferación de tumores de distintas extirpes (neuroblastoma, mama, riñón o melanoma) ha sido demostrado en estudios previos. Obviamente, este biomarcador fue seleccionado gracias al conjunto de artículos publicados sobre el efecto neovascularización del mismo (127-129).

- **Prostaglandina E2 (PGE2):** tiene un papel determinante en procesos inflamatorios y en la respuesta inmune así como un potente efecto vasodilatador. Es la principal prostaglandina implicada en la producción de tumores sólidos como neoplasia de mama, próstata o gastrointestinal. Los mecanismos de carcinogénesis son diversos. Además, en situaciones de hipoxia tisular, es una de las moléculas implicadas en el aumento de factor inducible por hipoxia (HIF-1) que conlleva a un aumento de la angiogénesis mediante VEGF. La analizamos en la presente Tesis por la existencia de un estudio en el que se evaluó la prostaglandina E2 sintasa 1 microsomal (mPGES1) como un importante efector descendente de la vía COX2, responsable de la inmunosupresión tumoral en el melanoma. Se realizó un análisis de un microarreglo tisular de melanoma en estadio III (n = 91) para evaluar la asociación entre mPGES1, COX2, CD8 y la supervivencia del paciente. Se emplearon inhibidores farmacológicos y modelos murinos singénicos con líneas celulares de melanoma murino sin expresión de PTGES (KO) para evaluar la función inmunosupresora mediada por mPGES1. Se observaron correlaciones en la expresión y localización de COX2 y mPGES1, asociadas con una mayor expresión de marcadores inmunosupresores en el melanoma humano. En un modelo murino de melanoma singénico, la inhibición de PTGES aumentó la

expresión de PD-L1 en el melanoma, incrementó la infiltración de linfocitos T CD8a+ y células dendríticas CD8a+ en los tumores y suprimió el crecimiento tumoral. Se observó una regresión tumoral duradera en ratones con tumores PTGES KO que recibieron terapia anti-PD-1. El análisis de una micromatriz de tejido de melanoma en estadio III reveló asociaciones significativas entre la alta expresión de mPGES1 y la baja infiltración de CD8+, lo que se correlacionó con una menor supervivencia del paciente. Si bien, se necesita mayor investigación en este campo del desarrollo de fármacos para validar el uso de inhibidores de mPGES1 como opciones de tratamiento seguras (130).

Por otro lado, Picado et al analizaron los hallazgos que vinculan la AOS con el cáncer y el papel que desempeña la vía de la ciclooxigenasa (COX) en esta asociación. Estudios realizados en modelos animales han demostrado que la hipoxia intermitente induce cambios en varias vías de señalización involucradas en la regulación de la vigilancia inmunológica del huésped que resulta en el establecimiento e invasión tumoral. La hipoxia intermitente induce la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) que resulta en un aumento de la síntesis de prostaglandina E2 (PGE2). La PGE2 modula la función de múltiples células involucradas en las respuestas inmunes, incluyendo linfocitos T, células NK, células dendríticas, macrófagos y células supresoras derivadas de mieloides. En un modelo murino, el bloqueo de COX-2/PGE2 anuló los efectos prooncogénicos de la HI. A pesar de que la aspirina inhibe la producción de PGE2 y previene el desarrollo de cáncer, ninguno de los estudios epidemiológicos que investigaron la asociación entre la AOS y el cáncer incluyeron el uso de aspirina en el análisis. Se necesitan estudios que investiguen la regulación de la vía COX-2/PGE2 y la producción de PGE2 en pacientes con AOS, para definir mejor el papel de este

eje en la fisiopatología de la AOS y el posible papel de la aspirina en la prevención del desarrollo de cáncer (131).

Leptina: Promueve también la angiogénesis tanto de manera intrínseca como mediante el aumento de niveles de otras moléculas como citoquinas o VEGF lo que se relaciona con mayor progresión tumoral así como mayor capacidad invasiva y metastásica de las células tumorales. Por otra parte, los pacientes con AOS y obesidad presentan una resistencia a la leptina relacionada con la apnea obstructiva del sueño. Se seleccionó, por tanto, este biomarcador porque existe evidencia de que la leptina contribuye al crecimiento tumoral. Sin embargo, no se han establecido con claridad todos los mecanismos por los cuales la leptina realiza este efecto. Así, se inyectaron 2×10^{-1} células de melanoma B16F10 por vía subcutánea a 32 ratones C57BL6. Los ratones se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos de ocho animales, el día 8. Dos grupos recibieron inyecciones intraperitoneales (i.p.) dos veces al día de solución salina tamponada con fosfato o leptina murina recombinante (1 $\mu\text{g/g}$ de peso corporal inicial). Dos grupos recibieron inyecciones i.p. de 9F8, un anticuerpo antirreceptor de leptina, o de la IgG murina control a 50 $\mu\text{g/inyección}$ cada 3 días consecutivos. Al final de la segunda semana, los animales fueron sacrificados y se analizaron muestras de sangre y tumores. La angiogénesis y la proliferación se evaluaron mediante tinción inmunohistoquímica para CD31 y Ki-67, respectivamente. El tamaño tumoral, la densidad capilar, los niveles plasmáticos del factor de crecimiento endotelial vascular y el número de células con tinción positiva para Ki-67 fueron significativamente mayores en el grupo con leptina que en el grupo 9F8 y en ambos grupos control ($P < 0,05$) reforzando la idea de que la leptina actúa como factor angiogénico y mitogénico para promover el crecimiento del melanoma (132).

Además, la leptina se asocia de forma importante a la AOS. La AOS se asocia con diversas adipocinas. La leptina, una adipocina común, ha atraído la atención de numerosos investigadores en los últimos años. Hasta la fecha, ha habido poco consenso sobre si los niveles sanguíneos de leptina difieren en pacientes con AOS. Por lo tanto, se realizó un metanálisis para examinar la relación entre los niveles séricos/plasmáticos de leptina y la aparición de AOS. Así, tras la revisión de 34 publicaciones, se identificaron 45 estudios que cumplieron los criterios de inclusión de este metanálisis y metarregresión. Los resultados sugirieron que los niveles plasmáticos de leptina fueron notablemente más altos en individuos con AOS que en individuos sanos. Se realizaron análisis de subgrupos según la gravedad de la AOS, la etnia, la edad, el índice de masa corporal, el tipo de ensayo y el origen de la muestra. Los niveles séricos y plasmáticos de leptina aumentaron en casi todos los subgrupos de AOS en comparación con los de los grupos control correspondientes. El análisis de metarregresión indicó que la edad, el IMC, la gravedad, los métodos de ensayo, el diseño del estudio, el tipo de PSG y la etnia no tuvieron un efecto independiente sobre los niveles de leptina. Además, en el metanálisis se encontró una relación positiva entre el nivel sérico/plasmático de leptina y el IAH. Los resultados del análisis secuencial de ensayos sugirieron que los estudios incluidos superaron el tamaño de información requerido, lo que confirma la fiabilidad de los hallazgos del estudio (133).

Como puede observarse en los mecanismos de acción de estas moléculas fueron seleccionadas dado que se han visto asociadas de alguna manera tanto con la facilitación para la producción o metastatización de algunos tumores como con su relación con la AOS. Sin embargo, todo es mucho más complicado dado

que el grado de correlación entre algunas puede ser elevado, al aumentar o disminuir la acción unas con otras como ocurre con el poder angiogénico, hecho fundamental para la producción de metástasis tumorales.

En nuestra muestra de los 10 biomarcadores en los pacientes con melanoma tan solo el TGF β -1, SMADA4, VEFG, MDK, sPDL-1 y PSPC1 se observaron aumentados, mientras que el resto presentaron valores normales. Al realizar el estudio univariado sin embargo tan solo el TGF β -1, MDK, sPD-L1 y PSPC1 aumentaban conforme aumentaba la gravedad de la AOS. Un hallazgo interesante es que el TGF β -1 aumentaba incluso más aunque el paciente llevara la CPAP con buena cumplimentación, mientras que el resto disminuía sus valores en mayor o menor medida en aquellos con buena cumplimentación.

En relación a la variable compuesta resultado, sin embargo, se observó un incremento estadísticamente significativo tan solo en los biomarcadores SMAD4, VEFG y sPD-L1. Es decir, valorando en su conjunto solo dos biomarcadores se asociaban tanto con la gravedad de la AOS como con la presencia de la variable principal: el VEFG y el sPD-L1. Estos dos biomarcadores son fundamentales, como se ha visto en diferentes estudios (129,134), tanto en la vascularización como en la proliferación de tumores. De hecho, existen tratamientos contra los mismos comercializados y disponibles para estos pacientes.

7.5 ANÁLISIS MULTIVARIADO

Finalmente y recogiendo todo este maremágnum de datos clínicos y bioquímicos, se realizó un análisis multivariado mediante un análisis de Cox con el objetivo de ver cuáles de todas las variables que en el análisis univariado salían

significativamente diferentes o aquellas que se pensó que pudieran ser clínicamente relevantes. Al final, las escogidas fueron edad, género, presencia de diabetes mellitus, índice de masa corporal, Índice de Breslow, grupos de AOS-CPAP, la ausencia de tratamiento radioterápico/quimioterápico del tumor y los biomarcadores: SMAD4, VEGF y sPD-L1.

De forma detallada se observaron las siguientes variables:

1. **La falta de tratamiento con QT/RT o farmacológico** fue la variable que de forma más potente (casi 6 veces más) se asoció a la aparición del evento compuesto final. Lo cual parece lógico dado la gran actividad de estos fármacos o bien porque dejaran de darse al estar el paciente demasiado evolucionado.
2. **El Índice de Breslow** al comienzo del estudio fue otro de los factores que se asoció de forma independiente a la mayor aparición de la variable compuesta. También es un resultado lógico dado que el Índice de Breslow marca la profundidad o gravedad del tumor al inicio de su diagnóstico.
3. En cuanto a la **AOS**, tema más asociado a esta Tesis Doctoral es la primera vez que se observa no solo que el riesgo de aparecer la variable compuesta en el melanoma se asocia ya a una AOS moderada y más aún a grave sino que el tratamiento durante el seguimiento con **CPAP** hizo disminuir este riesgo independientemente de otros variables a los valores basales de los pacientes con AOS. Este hallazgo de CPAP nunca se había encontrado con anterioridad. Tan solo un estudio epidemiológico francés que utilizaba base de datos según códigos diagnósticos observó una falta de relación entre el efecto de la CPAP con el cáncer (de cualquier tipo) (135).

4. Por último, tanto el **VEGF como el sPD-L1** también se asociaron a una mayor probabilidad de aparición de la variable principal. El VEGF es una molécula característica de la neovascularización y una de las primeras que aparecieron en la literatura científica como asociada a la mayor agresividad de los tumores (129). Su activación depende sobre todo de la molécula HIF-1 que aumenta en momentos de hipoxia tanto continua como sobre todo intermitente (característica de la AOS) (136). Este aumento del VEGF en el seno de los tumores (algunos de ellos ya vascularizados) incrementa el flujo sanguíneo en los mismos. La creación de esta molécula se supone que existe para compensar las áreas isquémicas que una lesión pueda tener como un infarto agudo de miocardio (137) de forma que la neovascularización puede hacer menos grave la situación. Sin embargo, en el caso de los tumores la situación que se da es paradójica y al aumentar su neovascularización lógicamente aumenta el riesgo de un aumento de tamaño y metástasis a distancia por lo que no es de extrañar que entre los diferentes biomarcadores aparecidos, el VEGF haya sido uno de los que se asocie de forma independiente con la variable compuesta que marca una mayor gravedad del melanoma. De hecho, existen ya comercializados fármacos antiVEGF en el tratamiento de algunos tumores.

En el caso del sPD-L1 es un marcador también bastante clásico en el los tumores, aunque no se había asociado a AOS. En este caso, el factor sPD-L1 utiliza otro mecanismo para inducir la gravedad tumoral y es que si las células tumorales presentan este receptor, el biomarcador incrementa la proliferación celular. Dado que es un mecanismo diferente al VEGF, es posible que este haya sido la causa de que se asocie de forma

independiente al VEGF a una peor evolución del tumor. No todas las células tumorales poseen este receptor pero también existe comercializados fármacos antiPD-L1 para evitar la proliferación celular tumoral. Posiblemente el resto de biomarcadores no han tenido la suficiente potencia estadística como para relacionarse de forma independiente con la variable compuesta final dado que presentan, en algunos casos mecanismos semejantes al VEGF y sPD-L1. Así, la Midkina es también un potente neovascularizador pero probablemente sea el VEGF en el contexto de una hipoxemia intermitente un mejor marcador de mal pronóstico. Algo semejante puede ocurrir entre el Factor de Crecimiento Transformante β 1 (138) y sPD-L1 (134).

7.6 CONSTRUCCIÓN DEL SCORE MULTIDIMENSIONAL

Finalmente, la construcción de un score con los datos arrojados por el análisis multivariado de Cox pensábamos que era de utilidad para diferenciar, con las variables que finalmente integraban el modelo, si el pronóstico del melanoma iba a ser bueno, regular o malo.

La construcción de un score no es sencilla y existen diferentes formas de analizarlo. En cualquier caso, el primer paso pasa por la dicotomización de las variables continuas a su punto con mayor sensibilidad y especificidad mediante la utilización de curvas ROC. Así, por ejemplo, un Índice de Breslow superior a 2 mm o unos valores de VEGF y sPD-L1 superiores a 70 pg/ml son los que presentaron un mejor poder pronóstico de la evolución del melanoma. Una vez realizado este análisis se incluyen

las variables en un nuevo análisis de Cox y aparecieron unos nuevos OR para cada una de ellas habitualmente, como aparece en la presente tesis, todos ellos significativos.

Para la construcción final del score se redondearon al alza los OR. En este caso queda un score de 10 puntos y los siguientes puntos por variable.

3 puntos: un Índice de Breslow > 2 mm. Parece lógico pensar que un Índice de Breslow mayor de 2 mm lo que supone ya una profundidad no desdeñable al diagnóstico de melanoma tenga un mayor poder predictivo de melanoma, de la misma forma que tampoco lo es la falta de QT/RT que da un valor de 2 puntos.

Sin embargo, un hallazgo muy interesante de la siguiente tesis es que la presencia de una AOS moderada-grave sin CPAP también aparezca con un valor de 2 puntos probablemente por la importante activación de la molécula HIF-1 mediante la hipoxia intermitente que pone en marcha sobre todo el VEGF que aparece también con 2 puntos. Por último, el sPD-L1 con un punto de corte en $70 \text{ ug/mL} > 70$ quedó con un solo punto, lo que significa que en el caso del melanoma parece que la vía fisiopatológica hipoxia-HIF-VEGF-mal pronóstico presenta un mayor poder que la de la proliferación celular inducida por sPD-L1. Por lo tanto, con todo ello, la suma total del score es de 10 puntos con un peor pronóstico a mayor número de puntos.

La formación de scores o puntuaciones es muy frecuente en la determinación del pronóstico o gravedad de muchas enfermedades respiratorias. Por ejemplo, en bronquiectasias existe el score FACED (139), construido de forma similar al formado en la presente Tesis Doctoral y que

marca la gravedad de bronquiectasias u otros scores que se utilizan en tromboembolismo pulmonar (140) o neumonías (141).

Un aspecto importante es que, además, el score permite realizar una división de puntuaciones, habitualmente en terciles, para dividir la gravedad en leve, moderada o grave o el pronóstico en bajo, medio o alto. De esta última forma, y utilizando terciles observamos que una puntuación de 0-2 puntos en el score hacía que las probabilidades del paciente para que apareciera la variable compuesta final fueron del 12,4%, mediano entre 3-6 puntos para una probabilidad del 56,3% y alto para una probabilidad del 88,2%. Es muy interesante ver como la probabilidad de aparición de la variable compuesta final se septuplica de tener 0-2 puntos a tener 7-10 puntos. Algo a tener en cuenta es que el score está formado por variables en cualquier caso modificables y que nos puede dar una idea de cómo los diferentes tratamientos pueden hacer que cambie su valor. Por ejemplo, conseguir una buena adaptación a la CPAP en pacientes con AOS moderada-grave en estos pacientes es muy importante ya que resta 2 puntos al score e incluso puede hacer que cambie de rango de grave a moderado o de moderado a leve. Esto significa que cualquier paciente con melanoma teóricamente debería de realizarse un estudio de sueño dada la altísima prevalencia de AOS entre los mismos, o al menos aquellos pacientes con ronquido u obesidad si la sobrecarga asistencial es muy elevada. Por otra parte, el decremento de los niveles de VEGF y sPD-L1 con los nuevos tratamientos puede hacer también bajar de escalón pronóstico hacia una mejoría, así como el tratamiento con radioterapia u otros productos siendo conscientes que en ocasiones por el tipo histológico

y otras circunstancias esto no es posible. Finalmente, el Índice de Breslow >2 es modificable mediante la cirugía del tumor.

7.7 FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Este estudio presenta algunas fortalezas que son dignas de exponer. Por un lado y después de una mediana de 60 meses de seguimiento, hemos podido conseguir los datos de un número muy importante de pacientes (algo más del 88%) lo que le confiere al estudio robustez. Por otro lado, llevamos años estudiando esta relación por lo que el conocimiento de la misma por el equipo que ha formado parte de esta tesis está demostrado.

Por una parte, la elección del tumor a estudiar: el melanoma cutáneo, que es uno de los ideales a la hora de analizar la relación entre los trastornos respiratorios durante el sueño y su relación con el cáncer dado que es visible, es visible su crecimiento o cambios que sugieran malignidad, y hay estudios in vitro, murino y en humanos que relacionan claramente desde un punto de vista epidemiológico estos dos tumores (111). Además, es muy posible que las células del melanoma tengan receptores para HIF-1 dado que parece que VEGF es muy sensible a las mismas, o dicho de otra forma, que las células del melanoma sean muy sensibles a la hipoxemia intermitente de la AOS. Por otro lado, es un estudio multicéntrico del que participan 29 centros, lo que asegura la representatividad geográfica del melanoma en toda España dado que su epidemiología cambia aun dentro del mismo país. Además, aparte de la exclusión de los melanomas “in situ”, los tipos de melanoma y su distribución son muy semejantes a los observados en otros estudios, y finalmente, es importante resaltar que es

un estudio prospectivo que por primera vez no valora solo la relación con AOS sino el efecto de la CPAP y qué añaden ciertos marcadores biológicos para conocer el pronóstico de la enfermedad. También, por último, hemos observado que algunas variables clave como el IMC no ha cambiado durante el seguimiento.

7.8 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Sin duda existen limitaciones que hay que reconocer. Por una parte, estos resultados no son aplicables a los melanomas “in situ” o de mucosas (aunque estos últimos son de baja frecuencia son muy agresivos dado que se suelen diagnosticar y tratar de forma tardía al no ser visibles). Por otro lado, durante la evolución puede haber ciertos cambios que no hayamos incorporado en el estudio ya que hay que pensar que existen decenas de nuevos fármacos y cada vez más contra el melanoma que incluso han conseguido revertir las metástasis del mismo, con mecanismos de acción diferentes. Por ello hemos intentado incluir los más representativos de la neovascularización y la proliferación celular, dos etapas clave del crecimiento y metastatización del tumor. Por ejemplo, Santamaria et al observaron al estudiar diferentes marcadores asociados a melanoma y AOS como VEGF, IL-8, la molécula de adhesión intracelular (ICAM), la molécula de adhesión vascular (VCAM) y la molécula de inhibición del melanoma (MIA) se asociaban a melanoma y a AOS. Sin embargo, estas moléculas no fueron introducidas en este estudio por falta de reactivos para las mismas, aunque es posible que la vía de las moléculas de adhesión

pueda jugar un importante papel en la relación entre ambas enfermedades (101).

Como limitación en la que no podemos establecer control directo es el cambio de edad con el paso del tiempo o las diferentes decisiones del personal facultativo dependiendo del estado de paciente. Es posible que la falta de QT/RT no sea solo debido a que el paciente no pudiera responder a ella sino al deterioro propio del paciente que hiciera que se tomara la decisión de no prescribirlas. También hay que reconocer que no pudimos obtener muestras sanguíneas de todos los pacientes.

Con el presente estudio no pretendemos demostrar una relación de causalidad dado el aspecto observacional del mismo pero sí es cierto que la relación de la AOS con melanoma es la más estudiada y la gran mayoría de estudios al respecto han obtenido una relación positiva entre ambas enfermedades (111). Finalmente, existen multitud de biomarcadores para su determinación en el mercado que pudieran haber tenido una mayor relación pronóstica. Sin embargo, con los 10 biomarcadores seleccionados por expertos en la materia creemos haber cubierto adecuadamente la mayoría de vías fisiopatológicas de relación con la AOS.

Por último, hemos tenido que utilizar una variable compuesta final: muerte, metástasis y recidiva al no poder estudiar cada uno por separado por falta de poder estadístico y escasos variables finales individuales.

7.9 RETOS FUTUROS

Debido al carácter meramente observacional del estudio creemos que hay un importante número de retos futuros que podrían ser abordables

dado que podrían suponer una mejoría de la esperanza de vida de los pacientes con melanoma. Sin entrar en aquellos que suponen plenamente comentarios exclusivos dermatológicos, uno de los retos fundamentales es valorar si realmente la CPAP bien tolerada es capaz de mejorar el pronóstico de estos pacientes mediante la realización de un ensayo clínico aleatorizados en pacientes con AOS moderada-grave, lo cual sería lícito dado que la mayoría de estos pacientes son paucisintomáticos, es decir, no presentaban hipersomnias y apenas síntomas de AOS.

Por otro lado, sería interesante valorar si los resultados son semejantes en diferentes tipos de melanoma desde el punto de vista histológico o de localización. En la presente Tesis Doctoral no hemos podido estudiarlo dada la falta de poder estadístico que ello podría suponer.

Importante también sería valorar la interacción de la hipoxemia intermitente de la AOS, el tratamiento con CPAP y las vías fisiopatológicas fundamentalmente valoradas (neovascularización y proliferación).

Asimismo, sería muy importante valorar si existen diferencias entre géneros en obesos o no obesos y según el tiempo de seguimiento.

Además, la concienciación de oncólogos y dermatólogos de que la AOS (o mejor dicho la hipoxemia intermitente generada por la AOS) es un claro y potente carcinogénico y que en el caso del melanoma podría ayudar a estos pacientes a mejorar su pronóstico.

Finalmente, sería muy interesante replicar el estudio para cada una de las partes que forman la variable compuesta final.

7.10 APLICABILIDAD CLÍNICA

Pensamos que la aplicabilidad clínica que este estudio puede tener, en términos de relación entre la AOS, el tratamiento con CPAP y la evolución de un melanoma, empieza como termina el último punto. Una concienciación de dermatólogos y oncólogos en preguntar a sus pacientes por clínica relacionada con sueño y enviar a realizar un estudio de sueño a los pacientes. Dado que la clínica es escasa, lo ideal sería mandar a todo paciente a la realización de un estudio de sueño al menos simplificado, pero dado que somos conscientes de la elevada prevalencia del melanoma y la gran presión asistencial existente en las unidades de sueño, sí desde luego sería imprescindible enviarlos ante la mínima sospecha clínica (roncópatas, obesos, hipertensos no controlados, observación de apneas o mala evolución del melanoma). La realización de un estudio de sueño puede realizarse en 24 horas y ser leído al día siguiente, no es ninguna prueba cruenta para el paciente, puede informar de otros muchos aspectos del sueño y puede hacer que se indique el tratamiento con CPAP que como se puede observar en el score contraído en la presente Tesis Doctoral, al eliminar apneas e hipopneas podría hacer desaparecer o minimizar la hipoxemia intermitente y con ello la vía de VEGF para la metastatización del melanoma.

Lógicamente, dado que existe un riesgo de mal pronóstico aumentado que presenta la AOS moderada y sobre todo la grave no tratada (que incluye a aquellos en los que se decide no tratar, que no quieren ser tratados o que presentan mala tolerancia al tratamiento) resulta fundamental establecer en estos pacientes un proceso de educación y de

tolerancia a la CPAP utilizando los medios adecuados (suelen ser diversos) como empezar con bajas presiones, realizar titulaciones leídas manualmente, control de los mascarillas poniendo las más adecuadas y otros procesos validados.

VIII. CONCLUSIONES

1. Dos biomarcadores, VEGF y SPD-L1, se asociaron de manera independiente a un peor pronóstico en los pacientes con melanoma cutáneo maligno.
2. Existió una relación entre diferentes marcadores de agresividad del melanoma y una mayor gravedad de AOS, observando un aumento proporcional al índice de apneas-hipopneas tanto del Índice de Breslow como del porcentaje de pacientes con afectación de ganglio centinela.
3. El tratamiento con CPAP de las formas moderada y grave de AOS redujo el impacto de AOS sobre el pronóstico del melanoma a un riesgo semejante al de los pacientes sin AOS
4. Además de la asociación con los biomarcadores ya comentados, tanto la falta de tratamiento quimioterápico o radioterápico como el presentar una AOS moderada o grave no correctamente tratada con CPAP o un melanoma con Índice de Breslow mayor a 2 mm en el momento del diagnóstico del melanoma se asociaron de manera independiente a un peor pronóstico de los pacientes con melanoma cutáneo maligno.
5. Un score multidimensional formado por la falta de tratamiento quimioterápico como radioterápico, la presencia de una AOS moderada o grave sin tratamiento con CPAP, un Índice de Breslow mayor de 2 mm, y una concentración de VEGF o de SPSL-1 mayor a 70 mg/ml en sangre periférica permitió predecir de manera adecuada el pronóstico de pacientes con melanoma cutáneo maligno.
6. Este score multidimensional permitió además clasificar a los pacientes con melanoma cutáneo en diferentes grupos de gravedad (leve, moderada o grave) según su repercusión pronóstica.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Mediano O, Gonzalez-Mangado N, Montserrat J, Alonso Alvarez M, Almendros I, Alonso-Fernandez A, et al. Documento Internacional de Consenso sobre Apnea Obstructiva del Sueño. 2022 Jan;58(1):52-68.
2. Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Samet JM, Redline S, et al. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. JAMA. 2000 Apr 12;283(14):1829-36.
3. Kiely JL, McNicholas WT. Cardiovascular risk factors in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. Eur Respir J. 2000 Jul;16(1):128-33.
4. Faccenda JF, Mackay TW, Boon NA, Douglas NJ. Randomized placebo-controlled trial of continuous positive airway pressure on blood pressure in the sleep apnea-hypopnea syndrome. Am J Respir Crit Care Med. 2001 Feb;163(2):344-8.
5. Harbison J, O'Reilly P, McNicholas WT. Cardiac rhythm disturbances in the obstructive sleep apnea syndrome: effects of nasal continuous positive airway pressure. Chest. 2000 Sep;118(3):591-5.
6. Bassetti C, Aldrich M. Sleep apnea in acute cerebrovascular diseases: Final report on 128 patients. Sleep. 1999 Mar 15;22(2):217-23.
7. Wessendorf TE, Teschler H, Wang YM, Konietzko N, Thilmann AF. Sleep-disordered breathing among patients with first-ever stroke. J Neurol. 2000 Jan;247(1):41-7.
8. Parra O, Arboix A, Bechich S, García-Eroles L, Montserrat JM, López JA, et al. Time course of sleep-related breathing disorders in first-ever stroke or transient ischemic attack. Am J Respir Crit Care Med. 2000 Feb;161(2 Pt 1):375-80.
9. Grau N, Martí-Almor, J, Félez, MA. Relationship between SAHS and cardiac arrhythmias. Arch Bronconeumol. 2021 Aug;57(8):513-514.
10. Parish JM, Somers VK. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease. Mayo Clin Proc. 2004 Aug;79(8):1036-46.

11. Wang X, Ouyang Y, Wang Z, Zhao G, Liu L, Bi Y. Obstructive sleep apnea and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cardiol.* 2013 Nov 5;169(3):207-14.
12. Brown J, Yazdi F, Jodari-Karimi M, Owen JG, Reisin E. Obstructive sleep apnea and hypertension: updates to a critical relationship, *Curr Hypertens Rep.* 2022 Jun;24(6):173-184.
13. Young T, Blustein J, Finn L, Palta M. Sleep-disordered breathing and motor vehicle accidents in a population-based sample of employed adults. *Sleep.* 1997 Aug;20(8):608-13.
14. Barbe F, Pericas J, Munoz A, Findley L, Antó JM, Agustí AG. Automobile accidents in patients with sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Jul;158(1):18-22.
15. Teran-Santos J, Jimenez-Gomez A, Cordero-Guevara J. The association between sleep apnea and the risk of traffic accidents. *N Engl J Med.* 1999 Mar 18;340(11):847-51.
16. George CF, Boudreau AC, Smiley A. Simulated driving performance in patients with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996 Jul;154(1):175-81.
17. Miller MM, Miller JC, Lipsitz JJ, Walsh JK, Wylie CD. The sleep of long-haul truck drivers. *N Engl J Med.* 1997 Sep 11;337(11):755-61.
18. Stoohs RA, Guilleminault C, Itoi A, Dement WC. Traffic accidents in commercial long-haul truck drivers: the influence of sleep-disordered breathing and obesity. *Sleep.* 1994 Oct;17(7):619-23.
19. Findley LJ, Unverzagt ME, Suratt PM. Automobile accidents involving patients with obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis.* 1988 Aug;138(2):337-40
20. Aldrich MS. Automobile accidents in patients with sleep disorders. *Sleep.* 1989 Dec;12(6):487-94.

21. Benjafield AV, Ayas NT, Eastwood PR, Heinzer R, Ip MSM, Morell MJ, et al. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: a literature-based analysis. *Lancet Respir Med*. 2019 Aug;7(8):687-698.
22. Senaratna CV, Perret JL, Lodge CJ, Lowe AJ, Campbell BE, Matheson MC, et al. Prevalence of obstructive sleep apnea in the general population: a systematic review. *Sleep Med Rev*. 2017 Aug;34:70-81.
23. Tarasiuk A, Reuveni H. The economic impact of obstructive sleep apnea. *Curr Opin Pulm Med*. 2013 Nov;19(6):639-44.
24. Sajith Kumar S, Suchitra Lakshmi G, Sohail A, Jagadeesh KV, Bagepally BS. Cost effectiveness of obstructive sleep apnea therapies: a systematic review and meta-analysis of cost utility studies. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*. 2025 Jan 12:1-9.
25. Lao M, Cheng Y, Gao X, Ou Q, The interaction among OSA, CPAP, and medications in patients with comorbid OSA and cardiovascular/cerebrovascular disease: a randomized controlled trial. *BMC Pulm Med*. 2022 Mar 21;22(1):99.
26. Justeau G, Bailly S, Gervès-Pinquié C, Trzepizur W, Meslier N, Goupil F, et al. Cancer risk in patients with sleep apnoea following adherent 5-year CPAP therapy. *Eur Respir J*. 2022 Apr 7;59(4):2101935.
27. Saginala K, Barsouk A, Aluru, JS, Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of Melanoma. *Med Sci (Basel)*. 2021 Oct 20;9(4):63.
28. Perera E, Gnaneswaran N, Jennens R, Sinclair R. Malignant Melanoma. *Healthcare (Basel)*. 2013 Dec 20;2(1):1-19.
29. Schadendorf D, van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A, et al. Melanoma. *Lancet*. 2018 Sep 15;392(10151):971-984.
30. Schadendorf D, Fisher DE, Garbe C, Gershenwald JE, Grob JJ, Halpern A, et al. Melanoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Apr 23:1:15003.
31. Gozal D, Farre R, Nieto FJ. Putative Links Between Sleep Apnea and Cancer: From Hypotheses to Evolving Evidence. *Chest*. 2015 Nov;148(5):1140-1147.

32. Thomlinson RH, Gray LH. The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br J Cancer*. 1955 Dec;9(4):539-49.
33. Brown JM. Evidence for acutely hypoxic cells in mouse tumours, and a possible mechanism of reoxygenation. *Br J Radiol*. 1979 Aug;52(620):650-6.
34. Brown JM. Tumor hypoxia, drug resistance, and metastases. *J Natl Cancer Inst*. 1990 Mar 7;82(5):338-9.
35. Zimna A, Kurpisz M. Hypoxia-Inducible Factor-1 in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis: Applications and Therapies. *Biomed Res Int*. 2015:549412.
36. Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, Jeyasekharan AD. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biol*. 2019 Jul;25:101084.
37. Sheerwood LM, Parris EE. Tumor angioneogenesis: therapeutic implications. *N Seminaris in Medicine of the Beth Israel Hospital Boston*. 1971 Nov: 285 (21):1182-1186.
38. Martínez-García MA, Riveiro-Falkenbach E, Rodríguez-Peralto JL, Nagore E, Martorell-Calatayud A, Campos-Rodríguez F, et al. A prospective multicenter cohort study of cutaneous melanoma: clinical staging and potential associations with HIF-1 α and VEGF expressions. *Melanoma Res*. 2017 Dec;27(6):558-564.
39. Almendros I, Martinez-Garcia MA, Farré R, Gozal D. Obesity, sleep apnea, and cáncer. *Int J Obes (Lond)*. 2020 Aug;44(8):1653-1667.
40. Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)*. 2009 Jan;33(1):54-66.
41. Martinive P, Defresne F, Bouzin C, Saliez J, Lair F, Gregoire V, et al. Preconditioning of the tumor vasculature and tumor cells by intermittent hypoxia: implications for anticancer therapies. *Cancer Res*. 2006 Dec 15;66(24):11736-44.
42. Verduzco D, Lloyd M, Xu L, Ibrahim-Hashim A, Balagurunathan Y, Gatenby RA, et al. Intermittent hypoxia selects for genotypes and phenotypes that increase

survival, invasion, and therapy resistance. PLoS One. 2015 Mar 26;10(3):e0120958.

43. Gutsche K, Randi EB, Blank V, Fink D, Wenger RH, Leo C, et al. Intermittent hypoxia confers pro-metastatic gene expression selectively through NFkappaB in inflammatory breast cancer cells. Free Radic Biol Med. 2016 Dec;101:129-142.

44. Louie E, Nik S, Chen JS, Schmidt M, Son, B, Pacson C, et al. Identification of a stem-like cell population by exposing metastatic breast cancer cell lines to repetitive cycles of hypoxia and reoxygenation. Breast Cancer Res. 2010;12(6):R94.

45. Bhaskara VK, Mohanam I, Rao JS, Mohanam S. Intermittent hypoxia regulates stem-like characteristics and differentiation of neuroblastoma cells. PLoS One. 2012;7(2):e30905

46. Bhaskara VK, Mohana I, Gujrati M, Mohanam S. Intermittent hypoxia effect on osteoclastogenesis stimulated by neuroblastoma cells. PLoS One. 2014 Aug 22;9(8):e105555.

47. Chen WL, Wang CC, Lin YJ, Wu CP, Hsieh CH. Cycling hypoxia induces chemoresistance through the activation of reactive oxygen species-mediated B-cell lymphoma extra-long pathway in glioblastoma multiforme. J Transl Med. 2015 Dec 28;13:389.

48. Tellier C, Desmet D, Petit L, Finet L, Graux C, Raes M, et al. Cycling hypoxia induces a specific amplified inflammatory phenotype in endothelial cells and enhances tumor-promoting inflammation in vivo. Neoplasia. 2015 Jan;17(1):66-78.

49. Almendros I, Wang Y, Becker L, Lennon FE, Zheng J, Coats BR, et al. Intermittent hypoxia-induced changes in tumor-associated macrophages and tumor malignancy in a mouse model of sleep apnea. Am J Respir Crit Care Med. 2014 Mar 1;189(5):593-601.

50. Almendros I, Gileles-Hillel A, Khalyfa A, Wang Y, Zhang SX, Carreras, A, et al. Adipose tissue macrophage polarization by intermittent hypoxia in a mouse model of OSA: effect of tumor microenvironment. Cancer Lett. 2015 Jun 1;361(2):233-9.

51. Cortese R, Almendros I, Wang Y, Gozal D. Tumor circulating DNA profiling in xenografted mice exposed to intermittent hypoxia. *Oncotarget*. 2015 Jan 1;6(1):556-69.
52. Almendros I, Khalyfa A, Trzepizur W, Gileles-Hillel A, Huang L, Akbarpour, M, et al. Tumor cell malignant properties are enhanced by circulating exosomes in sleep apnea. *Chest*. 2016 Nov;150(5):1030-1041.
53. Vilaseca A, Campillo N, Torres M, Musquera M, Gozal D, Montserrat JM, et al. Intermittent hypoxia increases kidney tumor vascularization in a murine model of sleep apnea. *PLoS One*. 2017 Jun 8;12(6):e0179444.
54. Nieto FJ, Peppard PE, Young T, Finn L, Hla KM, Farre R. Sleep-disordered breathing and cancer mortality: results from the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Jul 15;186(2):190-4.
55. Campos-Rodriguez F, Martinez-Garcia MA, Martinez M, Duran-Cantolla J, de la Peña M, Masdeu MJ, et al. Association between obstructive sleep apnea and cancer incidence in a large multicenter Spanish cohort. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Jan 1;187(1):99-105.
56. Christensen AS, Clark A, Salo P, Nymann P, Lange P, Prescott E, et al. Symptoms of sleep disordered breathing and risk of cancer: A prospective cohort study. *Sleep*. 2013 Oct 1;36(10):1429-35.
57. Marshall NS, Wong KKH, Cullen SRJ, Knuiman MW, Grunstein RR. Sleep apnea and 20-year follow-up for all-cause mortality, stroke, and cancer incidence and mortality in the busselton health study cohort. *J Clin Sleep Med*. 2014 Apr 15;10(4):355-62.
58. Kendzerska T, Leung RS, Hawker G, Tomlinson G, Gershon AS. Obstructive sleep apnea and the prevalence and incidence of cancer. *CMAJ*. 2014;186:985–92.
59. Martinez-Garcia MA, Campos-Rodriguez F, Durán-Cantolla J, de la Peña M, Mas-deu MJ, González M, et al. Obstructive sleep apnea is associated with cancer mortality in younger patients. *Sleep Med*. 2014 Jul;15(7):742-8.

60. Martínez-García MÁ, Martorell-Calatayud A, Nagore E, Valero I, Selma MJ, Chiner E, et al. Sleep disordered breathing and aggressiveness markers of malignant cutaneous melanoma. *Eur Respir J*. 2014 Jun;43(6):1661-8.
61. Chen J-C, Hwang J-H. Sleep apnea increased incidence of primary central nervous system cancers: A nationwide cohort study. *Sleep Med*. 2014;15:749–54.
62. Fang HF, Miao NF, Chen CD, Sithole T, Chung MH. Risk of Cancer in Patients with Insomnia, Parasomnia, and Obstructive Sleep Apnea: A Nationwide Nested Case-Control Study. *J Cancer*. 2015 Sep 15;6(11):1140-7.
63. Cohen JM, Li YT, Wu S, Han J, Qureshi AA, Cho E. Sleep duration and sleep disordered breathing and the risk of melanoma among US women and men. *Int J Dermatol*. 2015 Nov;54(11):e492-5.
64. Gozal D, Ham SA, Mokhlesi B. Sleep Apnea and Cancer: Analysis of a Nationwide Population Sample. *Sleep*. 2016 Aug 1;39(8):1493-500.
65. Lee S, Kim BG, Kim JW, Lee KL, Koo DL, Nam H, et al. Obstructive sleep apnea is associated with an increased risk of colorectal neoplasia. *Gastrointest Endosc*. 2017 Mar;85(3):568-573.e1.
66. Campos-Rodriguez F, Cruz-Medina A, Selma MJ, Rodriguez-de-la-Borbolla-Artacho M, Sanchez-Vega A, Ripoll-Orts F, et al. Association between sleep-disordered breathing and breast cancer aggressiveness. *PLoS One*. 2018 Nov 21;13(11):e0207591.
67. Martinez-Garcia MA, Campos-Rodriguez F, Nagore E, Martorell A, Rodriguez-Peralto JL, Riveiro-Falkenbach E, et al. Sleep-Disordered Breathing Is Independently Associated With Increased Aggressiveness of Cutaneous Melanoma: A Multicenter Observational Study in 443 Patients. *Chest*. 2018 Dec;154(6):1348-1358.
68. Sillah A, Watson NF, Schwartz SM, Gozal D, Phipps AI. Sleep apnea and subsequent cancer incidence. *Cancer Causes Control*. 2018 Oct;29(10):987-994.

69. Gao XL, Jia ZM, Zhao FF, An DD, Wang B, Cheng EJ, et al. Obstructive sleep apnea syndrome and causal relationship with female breast cancer: a mendelian randomization study. *Aging (Albany NY)*. 2020 Feb 29;12(5):4082-4092.
70. Chen CY, Hu JM, Shen CJ, Chou YC, Tian YF, Chen YC, et al. Increased incidence of colorectal cancer with obstructive sleep apnea: a nationwide population-based cohort study. *Sleep Med*. 2020 Feb;66:15-20.
71. Cho JH, Lim YC, Han KD, Lee JY, Choi JH. The incidence of malignant brain tumors is increased in patients with obstructive sleep apnea: A national health insurance survey. *PLoS One*. 2020 Nov 12;15(11):e0241598.
72. Choi JH, Kim SY, Han KD, Cho JH. The incidence of non-Hodgkin lymphoma is increased in patients with obstructive sleep apnea. *Leuk Res*. 2020 Nov;98:106455.
73. Lee EJ, Suh JD, Cho JH. The incidence of prostate cancer is increased in patients with obstructive sleep apnea Results from the national insurance claim data 2007-2014. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Feb 12;100(6):e24659.
74. Choi JH, Lee Y, Lim YC, Kim JK, Ha KD Cho JH. Association between obstructive sleep apnea and thyroid cancer incidence: a national health insurance data study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2021 Nov;278(11):4607.
75. Lacedonia D, Landriscina M, Scioscia G, Tondo P, Caccavo I, Bruno G, et al. Obstructive Sleep Apnea Worsens Progression-Free and Overall Survival in Human Metastatic Colorectal Carcinoma. *J Oncol*. 2021 Apr 2;2021:5528303.
76. Xiong H, Lao M, Zhang S, Chen J, Shi O, Xu Y, et al. A cross-sectional study of obstructive sleep apnea in patients with colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2022 Apr;13(2):683-694.
77. Campos-Rodriguez F, Santos-Morano J, Jurado-Gamez B, Osman-Garcia I, Rivera-Muñoz F, Salguero J, et al. Association between sleep-disordered breathing and prostate cancer. *Sleep Med*. 2022 Mar;91:35-42.

78. Chen R, Liang F, Wang M, Han P, Lin P, Zhang L, et al. Impact of moderate-to-severe obstructive sleep apnea on aggressive clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma. *Sleep Med.* 2022 Aug;96:99-104.
79. Lee EJ, Han KD, Kim SY, Su JD, Kim JK, Cho JH. Increased incidence of leukemia in patients with obstructive sleep apnea: Results from the national insurance claim data 2007-2014. *Sleep Med.* 2022 Aug;96:113-118.
80. Palm A, Theorell-Haglöw J, Isakson J, Ljunggren M, Sundh J, Ekström MP, et al. Association between obstructive sleep apnoea and cancer: a cross-sectional, population-based study of the DISCOVERY cohort. *BMJ Open.* 2023 Mar 3;13(3):e064501
81. Marriott RJ, Singh B, McArdle N, Darcey E, King S, Bond-Smith D, et al. Does OSA Increase Risk for Cancer?: A Large Historical Sleep Clinic Cohort Study. *Chest.* 2023 Oct;164(4):1042-1056.
82. Lee H, Kim HH, Kim KY, Yeo CD, Kang HH, Lee SH, et al. Associations among sleep-disordered breathing, sleep quality, and lung cancer in Korean patients. *Sleep Breath.* 2023 Aug;27(4):1619-1628.
83. Moriondo G, Soccio P, Minoves M, Scioscia G, Tondo P, Foschino Barbaro MP, et al. Intermittent Hypoxia Mediates Cancer Development and Progression Through HIF-1 and miRNA Regulation. *Arch Bronconeumol.* 2023 Oct;59(10):629-637.
84. Cubillos-Zapata C, Troncoso-Acevedo F, Díaz-García E, Alfaro E, Gotera-Rivera C, Pérez-Warnisher T, et al. Sleep apnoea increases biomarkers of immune evasion, lymphangiogenesis and tumour cell aggressiveness in high-risk patients and those with established lung cancer. *ERJ Open Res.* 2024 Feb 19;10(1):00777-2023.
85. Cho J, Jo S. Association of obstructive sleep apnea with risk of lung cancer: a nationwide cohort study in Korea. *Sci Rep.* 2024 May 29;14(1):12394.
86. Ding C, Mao L, Lu Y, Wu S, Ji W. Does obstructive sleep apnea-induced intermittent hypoxia increase the incidence of solitary pulmonary nodules, thyroid

nodules, and other disorders? A retrospective study based on 750 cardiovascular disease patients. *Sleep Breath*. 2024 Aug;28(4):1553-1562.

87. Theorell-Haglöw J, Zhou X, Wittert G, Adams R, Appleton S, Reynolds A, et al. Does obstructive sleep apnea increase the risk of cancer and cancer mortality in combined community-based cohorts? *J Sleep Res*. 2024 Aug;33(4):e14089.

88. Ferreira PM, Carvalho I, Redondo M, van Zeller M, Drummond M. The role of obstructive sleep apnea and nocturnal hypoxia as predictors of mortality in cancer patients. *Sleep Med*. 2024 Sep;121:258-265.

89. Hirsch AJ, Kendzerska T, Bhatti P, Jen R, Myers R, Hajipour M, et al. Obstructive sleep apnea severity, circulating biomarkers, and cancer risk. *J Clin Sleep Med*. 2024 Sep 1;20(9):1415-1422.

90. Rofstad EK, Gaustad JV, Egeland TA, Mathiesen B, Galappathi K. Tumors exposed to acute cyclic hypoxic stress show enhanced angiogenesis, perfusion and metastatic dissemination. *Int J Cancer*. 2010 Oct 1;127(7):1535-46

91. Almendros I, Montserrat JM, Ramirez J, Torres M, Duran-Cantolla J, Navajas D, et al. Intermittent hypoxia enhances cancer progression in a mouse model of sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2012 Jan;39(1):215-7.

92. Almendros I, Montserrat JM, Torres M, Bonsignore MR, Chimenti L, Navajas D, et al. Obesity and intermittent hypoxia increase tumor growth in a mouse model of sleep apnea. *Sleep Med*. 2012 Dec;13(10):1254-60.

93. Almendros I, Montserrat JM, Torres M, Bonsignore MR, Chimenti L, Navajas D, et al. Intermittent hypoxia increases melanoma metastasis to the lung in a mouse model of sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013 May 1;186(3):303-7.

94. Eubank T, Sherwani S, Peters S, Gross A, Evans R, Magalang UJ. Intermittent hypoxia augments melanoma tumor metastases in a mouse model of sleep apnea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2013 Jan; 187:A2302.

95. Olbryt M, Habryka A, Student S, Jarzab M, Tyszkiewicz T, Lisowska KM. Global gene expression profiling in three tumor cell lines subjected to experimental cycling and chronic hypoxia. *PLoS One*. 2014 Aug 14;9(8):e105104.
96. Li A, Liang M, Fang Y, Cao J, Chen B. Antioxidant tempol ameliorates intermittent hypoxia-induced melanoma lung metastasis in a mouse model of OSA. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2016;193:A7741.
97. Perini S, Martinez D, Montanari CC, Fiori CZ. Enhanced expression of melanoma progression markers in mouse model of sleep apnea. *Rev Port Pneumol (2006)*. 2016 Jul-Aug;22(4):209-13.
98. Yoon DW, So D, Min S, Kim J, Lee M, Khalmuratova R, et al. Accelerated tumor growth under intermittent hypoxia is associated with hypoxia-inducible factor-1-dependent adaptive responses to hypoxia. *Oncotarget*. 2017 Jun 27;8(37):61592-61603.
99. Almendros I, Martínez-García MÁ, Campos-Rodríguez F, Riveiro-Falkenbach E, Rodríguez-Peralto JL, Nagore E, et al. Intermittent Hypoxia Is Associated With High Hypoxia Inducible Factor-1 α but Not High Vascular Endothelial Growth Factor Cell Expression in Tumors of Cutaneous Melanoma Patients. *Front Neurol*. 2018;9:272.
100. Cubillos-Zapata C, Martínez-García MÁ, Campos-Rodríguez F, de la Torre MS, Nagore E, Martorell-Calatayud A, et al. Soluble PD-L1 is a potential biomarker of cutaneous melanoma aggressiveness and metastasis in obstructive sleep apnea patients. *Eur Respir J*. 2019 Jan 31;53(2):1801298.
101. Santamaria-Martos F, Benítez I, Girón C, Barbé F, Martínez-García MA, Hernández L, et al. Biomarkers of carcinogenesis and tumour growth in patients with cutaneous melanoma and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2018 Mar 15;51(3):1701885.
102. Cubillos-Zapata C, Martínez-García MÁ, Díaz-García E, Toledano V, Campos-Rodríguez F, Sánchez-de-la-Torre M, et al. Proangiogenic factor midkine is increased in melanoma patients with sleep apnea and induces tumor cell proliferation. *FASEB J*. 2020 Dec;34(12):16179-16190.

103. Cubillos-Zapata C, Martínez-García MÁ, Díaz-García E, García-Tovar S, Campos-Rodríguez F, Sánchez-de-la-Torre M, et al. Obstructive sleep apnoea is related to melanoma aggressiveness through paraspeckle protein-1 upregulation. *Eur Respir J*. 2023 Feb 2;61(2):2200707.
104. Javaheri S, Martinez-Garcia MA, Campos-Rodriguez F, Muriel A, Peker Y. Continuous Positive Airway Pressure Adherence for Prevention of Major Adverse Cerebrovascular and Cardiovascular Events in Obstructive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 Mar 1;201(5):607-610.
105. Campos-Rodriguez F, Martinez-Garcia MA, de la Cruz-Moron I, Almeida-Gonzalez C, Catalan-Serra P, et al. Cardiovascular mortality in women with obstructive sleep apnea with or without continuous positive airway pressure treatment: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2012 Jan 17;156(2):115-22.
106. Romero-Corral A, Caples SM, Lopez-Jimenez F, Somers VK. Interactions between obesity and obstructive sleep apnea: implications for treatment. *Chest*. 2010 Mar;137(3):711-9
107. Morin CM, Jarrin DC. Epidemiology of Insomnia: Prevalence, Course, Risk Factors, and Public Health Burden. *Sleep Med Clin*. 2022 Jun;17(2):173-191.
108. Olsen CM, Pandeya N, Rosenberg PS, Whiteman DC. Incidence of in Situ vs Invasive Melanoma: Testing the "Obligate Precursor" Hypothesis. *J Natl Cancer Inst*. 2022 Oct 6;114(10):1364-1370.
109. Sergi MC, Filoni E, Triggiano G, Cazzato G, Internò V, Porta C, et al.. Mucosal Melanoma: Epidemiology, Clinical Features, and Treatment. *Curr Oncol Rep*. 2023 Nov;25(11):1247-1258.
110. Conforti C, Zalaudek Epidemiology and Risk Factors of Melanoma: A Review. *Dermatol Pract Concept*. 2021 Jul 1;11(Suppl 1):e2021161S
111. Martinez-Garcia MA, Campos-Rodriguez F, Almendros I, Garcia-Rio F, Sanchez-de-la-Torre M, Farre R, et al. Cancer and Sleep Apnea: Cutaneous Melanoma as a Case Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Dec 1;200(11):1345-1353.

112. Boutros A, Croce E, Ferrari M, Gili R, Massaro G, Marconcini R, et al. The treatment of advanced melanoma: Current approaches and new challenges. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2024 Apr;196:104276.
113. Dhanyamraju PK, Patel TN. Melanoma therapeutics: a literature review. *J Biomed Res*. 2022 Feb 28;36(2):77-97.
114. Cao Y, Ning P, Li Q, Wu S. Cancer and obstructive sleep apnea: An updated meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2022 Mar 11;101(10):e28930.
115. White MC, Holman DM, Boehm JE, Peipins LA, Grossman M, Henley SJ. Age and cancer risk: a potentially modifiable relationship. *Am J Prev Med*. 2014 Mar;46(3 Suppl 1):S7-15.
116. Pati S, Irfan W, Jameel A, Ahmed S, Shahid RK. Obesity and Cancer: A Current Overview of Epidemiology, Pathogenesis, Outcomes, and Management. *Cancers (Basel)*. 2023 Jan 12;15(2):485.
117. Martinez-Garcia MA, Gozal D. OSA and CPAP treatment in the very elderly: the challenge of the unknown. *Sleep*. 2021 Nov 12;44(11):zsab143.
118. Nagore E, Martinez-Garcia MA, Gomez-Olivas JD, Manrique-Silva E, Martorell A, Bañuls J, et al. Relationship between type 2 diabetes mellitus and markers of cutaneous melanoma aggressiveness: an observational multicentric study in 443 patients with melanoma. *Br J Dermatol*. 2021 Oct;185(4):756-763.
119. Qi L, Qi X, Xiong H, Liu Q, Li J, Zhang Y, et al. Type 2 diabetes mellitus and risk of malignant melanoma: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Iran J Public Health*. 2014 Jul;43(7):857-66.
120. Fiedorczuk P, Polecka A, Walasek M, Olszewska E. Potential Diagnostic and Monitoring Biomarkers of Obstructive Sleep Apnea-Umbrella Review of Meta-Analyses. *J Clin Med*. 2022 Dec 21;12(1):60.
121. Li H, Sun K, Zhao R, Hu J, Hao Z, Wang F, Lu Y, et al. Inflammatory biomarkers of coronary heart disease. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2018 Jan 1;10(1):185-196.
122. Henry NL, Hayes DF. Cancer biomarkers. *Mol Oncol*. 2012 Apr;6(2):140-6.

123. Tuncer E, Calçada RR, Zingg D, Varum S, Cheng P, Freiburger SN, et al. SMAD signaling promotes melanoma metastasis independently of phenotype switching. *J Clin Invest*. 2019 Apr 30;129(7):2702-2716.
124. Cubillos-Zapata C, Martínez-García MÁ, Díaz-García E, Jaureguizar A, Campos-Rodríguez F, Sánchez-de-la-Torre M, et al. Obesity attenuates the effect of sleep apnea on active TGF- β 1 levels and tumor aggressiveness in patients with melanoma. *Sci Rep*. 2020 Sep 23;10(1):15528.
125. Szczygielski O, Dąbrowska E, Niemyjska S, Przyłipiak A, Zajkowska M. Targeting Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Melanoma. *Int J Mol Sci*. 2024 Dec 18;25(24):13558.
126. Kim SY, Yoon H, Choi SH, Cho J. Serum matrix metalloproteinase-9 as a potential biomarker for obstructive sleep apnea severity. *Sleep Breath*. 2025 Mar 21;29(2):134.
127. Goel HL, Mercurio AM. VEGF targets the tumour cell. *Nat Rev Cancer*. 2013 Dec;13(12):871-82.
128. Patel SA, Nilsson MB, Le X, Cascone T, Jain RK, Heymach JV. Molecular Mechanisms and Future Implications of VEGF/VEGFR in Cancer Therapy. *Clin Cancer Res*. 2023 Jan 4;29(1):30-39.
129. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology*. 2005;69 Suppl 3:4-10.
130. Kim SH, Roszik J, Cho SN, Ogata D, Milton DR, Peng W, et al. The COX2 Effector Microsomal PGE2 Synthase 1 is a Regulator of Immunosuppression in Cutaneous Melanoma. *Clin Cancer Res*. 2019 Mar 1;25(5):1650-1663.
131. Picado C, Roca-Ferrer J. Role of the Cyclooxygenase Pathway in the Association of Obstructive Sleep Apnea and Cancer. *J Clin Med*. 2020 Oct 10;9(10):3237.
132. Amjadi F, Mehdipoor R, Zarkesh-Esfahani H, Javanmard SH. Leptin serves as angiogenic/mitogenic factor in melanoma tumor growth. *Adv Biomed Res*. 2016 Jul 29;5:127.

133. Li X, He J. The Association Between Serum/Plasma Leptin Levels and Obstructive Sleep Apnea Syndrome: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Sep 24;12:696418.
134. Tiako Meyo M, Jouinot A, Giroux-Leprieur E, Fabre E, Wislez M, Alifano M, et al. Predictive Value of Soluble PD-1, PD-L1, VEGFA, CD40 Ligand and CD44 for Nivolumab Therapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: A Case-Control Study. *Cancers (Basel)*. 2020 Feb 18;12(2):473).
135. Kendzerska T, Pendharkar SR, Talarico R, Blades K, Mackenzie C, Gershon AS, et al. Association between a recalled positive airway pressure device and incident cancer: a population-based study. *Eur Respir J*. 2024 Nov 7;64(5):2400560.
136. Ziello JE, Jovin IS, Huang Y. Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-1 regulatory pathway and its potential for therapeutic intervention in malignancy and ischemia. *Yale J Biol Med*. 2007 Jun;80(2):51-60.
137. Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 and cardiovascular disease. *Annu Rev Physiol*. 2014;76:39-56.
138. Wang J, Xiang H, Lu Y, Wu T. Role and clinical significance of TGF- β 1 and TGF- β R1 in malignant tumors (Review). *Int J Mol Med*. 2021 Apr;47(4):55.
139. Martinez-Garcia MA, Athanazio RA, Girón R, Máiz-Carro L, de la Rosa D, Oliveira C, et al. Predicting high risk of exacerbations in bronchiectasis: the E-FACED score. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017 Jan 18;12:275-284.
140. Corrigan D, Prucnal C, Kabrhel C. Pulmonary embolism: the diagnosis, risk-stratification, treatment and disposition of emergency department patients. *Clin Exp Emerg Med*. 2016 Sep 30;3(3):117-125.
141. Hincapié C, Ascuntar J, León A, Jaimes F. Community-acquired pneumonia: comparison of three mortality prediction scores in the emergency department. *Colomb Med (Cali)*. 2021 Oct 23;52(4):e2044287.

X. ANEXOS

10.1 HOJA DE RECOGIDA DE DATOS DE PACIENTES

ESTUDIO SAHS MELANOMA (SEGUIMIENTO):

APNEA DEL SUEÑO Y MARCADORES DE AGRESIVIDAD, RECIDIVA Y MUERTE DEL MELANOMA CUTÁNEO MALIGNO: ESTUDIO DE SEGUIMIENTO

Dado que en el estudio inicial se ratificó la asociación entre la gravedad de los TRS/SAHS y una mayor agresividad del melanoma cutáneo, planteamos la continuación del mismo con el **OBJETIVO** de valorar si también existe relación con la tasa de recidiva, aparición de metástasis, agresividad y muerte en este grupo de pacientes con melanoma cutáneo maligno.

¡IMPORTANTE!. **Todos los gastos serán remunerados (Beca PI16/01772)

*Se debe incluir a **TODOS** los pacientes del estudio inicial. Los datos se recogerán **DESDE LA FECHA DE DIAGNÓSTICO DEL PRIMER MELANOMA, SIEMPRE Y CUANDO HAYAN PASADO AL MENOS 3 AÑOS DESDE EL DIAGNÓSTICO DEL MISMO.**

*Rellenad únicamente los campos blancos.

*En caso de no disponer de algún dato y sea imposible su recuperación, por favor, **dejad constancia TACHANDO el campo correspondiente con una línea.**

Hospital.....

Médico responsable.....

Código paciente.....

Fecha Diag. melanoma

DERMATOLOGÍA/ONCOLOGÍA

Subtipo de melanoma inicial

Breslow (mm)

****Recidiva de melanoma:**

SI

NO

Perdido

Fecha de Dx AP recidiva

Fecha de excisión

Localización: cabeza/cuello

MMSS

MMII

tronco

acral

Fotolocalización:

Oculto siempre

Fotoexp. Crónica

Fotoexp. Verano

Índice de Breslow (mm)

Índice Clark

Regresión:

SI

NO

Ulceración:

SI

NO

Índice mitótico/mm² (en 5 campos de gran aumento)

Presencia histológica de nevus previo

SI

NO

Subtipo de la recidiva

****Ganglio centinela afecto**

SI

NO

Perdido

Fecha

****Metástasis**

SI

NO

Perdido

Fecha

Localización y describir

¡¡IMPORTANTE!!: En el caso de recidiva, nuevas lesiones o ganglio afecto, remitir informe de AP

****Nuevos tratamientos relacionados con:** melanoma inicial, metastasis o recidivas (QT, RT etc....)

Especificar:

ANALÍTICA. Extraer en **TODOS LOS CENTROS 10 ml de sangre y de ella las alícuotas de plasma de 1ml posibles (al menos 5) con tubo lila (EDTA).** EN AQUELLOS CENTROS QUE SEA POSIBLE sacar 5 ml de la banda mononuclear (banda blanca central entre los glóbulos rojos debajo y el plasma arriba también en tubo lila EDTA (para estudio genético y celular con células mononucleares) en: **1)** El momento se detecte una recidiva, otro tumor, lesiones ganglionares o metástasis a distancia, **2)** En todos los pacientes al finalizar el estudio (aprovechad cuando se le hace la prueba de sueño). Guardad la muestra a -80°C Fecha extracción.....

(Última analítica disponible) Fibrinógeno (mg/dL).....VSG (mm1ªh).....PCR (UI/mL).....

BIOPSIAS DE NUEVOS TUMORES: Se solicitará al final del estudio, muestra para estudio IHQ

UNIDAD DE SUEÑO

IAH al diagnóstico /h

CPAP SI NO Fecha inicio..... Horas uso.....

Ronquido SI NO No sabe Apneas presenciadas SI NO No sabe

Presión empíricacmH2O Presión tituladacmH2O

Retirada CPAP SI NO Causa Fecha.....

IMC actual.....kg/m² Epworth actual..... Horas de sueño.....

Estudio de sueño (al final del seguimiento). Lectura manual por PR o PSG. Fecha.....

Dispositivo..... ¿Domiciliario (D) u hospital (H)?..... Tiempo de registro.....

IAH..... IAHo..... IAHC..... IA..... IAHSup.....ID3%.....ID4%.....CT90%.....

Sat inicial..... Sat media.....Sat mínima.....Tiempo en supino..... Cheyne-Stokes SI NO

****Fecha del último contacto con el paciente**

****¿El paciente ha sido excluido?** NO SI Causa

COMENTARIOS (Cualquier aclaración que se precise acerca de los datos)

Role of Sleep Apnea and Long-Term CPAP Treatment in the Prognosis of Patients With Melanoma



A Prospective Multicenter Study of 443 Patients

Jose Daniel Gómez-Olivas, MD; Francisco Campos-Rodriguez, MD; Eduardo Nagore, MD; Antonio Martorell, MD; Francisco García-Río, MD; Carolina Cubillos, MD; Luis Hernandez, MD; Jose Bañuls, MD; Eva Arias, MD; Pablo Ortiz, MD; Valentin Cabriada, MD; Juan Gardeazabal, MD; Josep Maria Montserrat, MD; Cristina Carrera, MD; Juan Fernando Masa; Javier Gomez de Terreros, MD; Jorge Abad, MD; Adam Boada, MD; Olga Mediano, MD; Marta Castillo-Garcia, MD; Eusebi Chiner, MD; Pedro Landete, MD; Mercedes Mayos, MD; Ana Fortuna, MD; Ferrán Barbé, MD; Manuel Sanchez-de-la-Torre, PhD; Irene Cano-Pumarega, MD; Amalia Perez-Gil, MD; Teresa Gomez-Garcia, MD; Daniela Cullen, MD; Maria Somoza, MD; Manuel Formigon, MD; Felipe Aizpuru, MD; Grace Oscullo, MD; Alberto Garcia-Ortega; Isaac Almendros, MD; Ramón Farré, MD; David Gozal, MD; and Miguel Angel Martinez-Garcia, MD

BACKGROUND: OSA has been associated with increased incidence and aggressiveness of melanoma. However, the long-term impact of OSA and CPAP treatment on the prognosis of melanoma remains unexplored.

RESEARCH QUESTION: Are OSA and CPAP treatment associated independently with a poor prognosis for cutaneous melanoma?

STUDY DESIGN AND METHODS: Four hundred forty-three patients with a diagnosis of cutaneous melanoma (2012-2015) underwent a sleep study within 6 months of diagnosis. The main 5-year outcome of the study was a composite of melanoma recurrence, metastasis, or mortality. Patients were divided into four groups: baseline apnea-hypopnea index (AHI) of fewer than 10 events/h (no OSA; control group), OSA treated with CPAP and good adherence, untreated or poor CPAP adherence in moderate (AHI, 10-29 events/h), and severe OSA (AHI, ≥ 30 events/h). Survival analysis was used to determine the independent role of OSA and CPAP treatment on melanoma composite outcome.

RESULTS: Three hundred ninety-one patients (88.2%) were available for analysis at 5-year follow-up (mean age, 65.1 ± 15.2 years; 49% male; Breslow index, 1.7 ± 2.5 mm). One hundred thirty-nine patients had AHI of fewer than 10 events/h (control group); 78 patients with OSA were adherent to CPAP; and 124 and 50 patients had moderate and severe OSA, respectively, without CPAP treatment. Median follow-up was 60 months (interquartile range, 51-74 months). During follow-up, 32 relapses, 53 metastases, and 52 deaths occurred (116 patients showed at least one of the main composite outcomes). After adjusting for age, sex, sentinel lymph nodes affected at diagnosis, BMI, diabetes, nighttime with an oxygen saturation below 90%, Breslow index, Epworth sleepiness scale scores, and melanoma treatment, moderate (hazard ratio [HR], 2.45; 95% CI, 1.09-5.49) and severe OSA (HR, 2.96; 95% CI, 1.36-6.42) were associated with poorer prognosis of melanoma compared with the control group. However, good adherence to CPAP avoided this excess risk (HR, 1.66; 95% CI, 0.71-3.90).

INTERPRETATION: Moderate to severe untreated OSA is an independent risk factor for poor prognosis of melanoma. Treatment with CPAP is associated with improved melanoma outcomes compared with untreated moderate to severe OSA.

CHEST 2023; 164(6):1551-1559

KEY WORDS: aggressiveness; cancer; CPAP; melanoma; mortality; sleep apnea

FOR EDITORIAL COMMENT, SEE PAGE 1354

Take-home Points

Study Question: Are OSA and CPAP treatment associated independently with poor prognosis for cutaneous melanoma?

Results: The presence of moderate to severe nontreated OSA is associated independently with poor long-term prognosis for cutaneous melanoma (defined as a composite of death, metastasis, or tumor relapse). Good adherence to CPAP treatment in patients with moderate to severe OSA normalized this excess of risk in patients with OSA.

Interpretation: The presence of OSA emerges as a new risk factor for a poor long-term prognosis for cutaneous melanoma. However, if the underlying OSA is treated with CPAP and patients adhere to this treatment, the risk imposed by OSA on cutaneous melanoma outcomes is normalized.

OSA is a highly heterogeneous disease from both clinical and pathophysiologic points of view.¹⁻³ In the last decade, a number of both population-based and clinic-based studies have suggested an association between OSA and an increased prevalence,⁴ incidence,⁵ and aggressiveness of cancer in general,⁶ as well as particular types of cancer.⁷⁻¹²

More specifically, the relationship between OSA and cutaneous melanoma has gained particular attention

because virtually all epidemiologic studies to date have detected a priori significant adverse effects of OSA on this highly malignant tumor.¹³ Furthermore, both experimental cell-based and murine models indicate that melanoma cells are susceptible to intermittent hypoxia (IH) mimicking OSA, as well as to sleep fragmentation and other immune or metabolic changes generated in the context of an excess of sleep-disordered breathing.¹³⁻²⁴ Moreover, the putative effects of OSA on cutaneous melanoma likely are mediated by several molecular pathways,^{16-18,23} which may open the way for future potential therapeutic opportunities.^{25,26}

In a recent cross-sectional multicenter study of 443 patients with cutaneous melanoma, we observed that the presence of untreated moderate to severe OSA (apnea-hypopnea index [AHI], > 15 events/h) was almost twice as likely to be accompanied by a more aggressive melanoma (Breslow index, > 1 mm, as well as other tumor aggressiveness markers) after adjusting for different confounders. Furthermore, this association was particularly evident in those individuals younger than 55 years and in those with more aggressive melanoma.²⁴

However, to date, no prospective longitudinal studies have analyzed the long-term impact of treated and nontreated patients with OSA with cutaneous melanoma. Therefore, we conducted a long-term 5-year follow-up study of the aforementioned cohort²⁵ with the following primary objectives: (1) to analyze the impact

ABBREVIATIONS: AHI = apnea-hypopnea index; IH = intermittent hypoxia; Tsat90% = nighttime with an oxygen saturation below 90%

AFFILIATIONS: From the Respiratory Department (J. D. G.-O., G. O., A. G.-O., and M. A. M.-G.), Hospital Universitario y Politécnico la Fe, the Dermatology Department (E. N.), Instituto Valenciano de Oncología, the Dermatology Department (A. M.), Hospital de Manises, Valencia, the Respiratory Department (F. C.-R.), the Dermatology Department (A. P.-G.), Hospital Valme, IBIS (F. C.-R.), Instituto Andaluz de Investigación, Seville, the Respiratory Department (F. G.-R. and C. Cubillos), Hospital Universitario La Paz, IdiPaz, the Respiratory Department (E. A.), the Dermatology Department (P. O.), Hospital Universitario 12 de Octubre, the Respiratory Department (I. C.-P.), Hospital Universitario Ramon y Cajal, IRYCIS, the Respiratory Department (T. G.-G.), the Dermatology Department (D. C.), Fundación Jiménez Díaz, the Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (I. A. and R. F.), CIBERes (F. C.-R., F. G.-R., C. Cubillos, J. M. M., J. F. M., J. G. d. T., O. M., A. F., F. B., M. S.-d.-L.-T., T. G.-G., I. A., R. F., and M. A. M.-G.), VCIBER de Enfermedades Respiratorias, Madrid, the Respiratory Department (L. H.), the Dermatology Department (J. B.), Hospital General Universitario Balneario de Alicante, the Clinical Medicine Department (L. H. and J. B.), UMH, the Respiratory Department (E. C. and P. L.), Hospital Universitario San Juan de Alicante, Alicante, the Respiratory Department (V. C.), the Dermatology Department (J. G.), Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, the Respiratory Department (J. M. M.), the Dermatology Department (C. Carrera), Hospital Clinic-IDIBAPS, the Respiratory Department (J. A.), the Dermatology Department (A. B.),

Hospital Universitario Germans Trias i Pujol, the Respiratory Department (M. M. and A. F.), Hospital Universitario Santa Creu i Sant Pau, the Respiratory Department (M. S.), the Dermatology Department (M. F.), Consorcio Sanitario Terrassa, the Unitat de Biofísica i Bioenginyeria (I. A. and R. F.), Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona, the Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (I. A. and R. F.), Barcelona, the Respiratory Department (J. F. M. and J. G. d. T.), Hospital Universitario San Pedro de Alcantara, Cáceres, the Respiratory Department (O. M. and M. C.-G.), Hospital Universitario General de Guadalajara, Guadalajara, the Group of Precision Medicine in Chronic Diseases (F. B. and M. S.-d.-L.-T.), Respiratory Department, University Hospital Arnau de Vilanova and Santa Maria, the Department of Nursing and Physiotherapy (F. B. and M. S.-d.-L.-T.), Faculty of Nursing and Physiotherapy, University of Lleida, IRBLleida, Lleida, the Biostatistical Service (F. A.), BioAraba, Health Research Institute, OSI Araba University Hospital, Basque Health Service, University of the Basque Country, Leioa, Spain; and the Department of Child Health and Child Health Research Institute, School of Medicine (D. G.), The University of Missouri, Columbia, MO.

CORRESPONDENCE TO: Miguel Ángel Martínez-García, MD; email: mianmartinezgarcia@gmail.com

Copyright © 2023 American College of Chest Physicians. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2023.06.012>

of untreated OSA on the long-term prognosis of patients with cutaneous melanoma and (2) to assess the effect of

CPAP treatment on patients with OSA and cutaneous melanoma.

Study Design and Methods

Study Design and Participants

This was a prospective longitudinal multicenter study that included consecutive patients with a diagnosis of cutaneous melanoma from 29 Spanish hospitals. Exclusion criteria were: melanoma of an unknown origin, melanoma in mucosa or melanoma in situ, pregnancy, previous treatment with CPAP, and previous respiratory or heart failure. The study was approved by the ethics committees of all the hospitals (e-Table 1), and all participants gave their informed consent.

Every participant completed a standardized protocol at the time of the melanoma diagnosis, including a sleep study and melanoma characteristics and risk factors, as described elsewhere.²⁴ In short, the respiratory polygraphy included continuous recording of oronasal flow and pressure, heart rate, thoracic and abdominal respiratory movements, and oxygen saturation. Polygraphic data were scored manually by skilled personnel. Apnea was defined as an interruption of oronasal airflow for > 10 s. Hypopnea was defined as a 30% to 90% reduction in oronasal airflow for > 10 s associated with oxygen desaturation of $\geq$ 3%. The AHI was defined as the number of apneas plus hypopneas per hour of recording, whereas Tsat90 was defined as the percentage of recording at night with oxygen saturation of < 90%. The recording time, desaturation indexes at 3%; and mean baseline nocturnal, baseline daytime, and minimum nocturnal saturation also were recorded.

Follow-up

All patients were followed up medically by the dermatology department (at least one visit every 6 months, including additional visits if necessary or when the patients requested them) and by sleep specialists (at least one visit every 3-6 months, depending on the treatment with CPAP and including additional visits if necessary or when the patients requested them) according to the standard clinical guidelines and protocols of each participating center.

The decision to treat and types of treatment for both the cutaneous melanoma and for OSA if present were decided by the physician team in each center following the Spanish national guidelines of both diseases.^{27,28} During each follow-up visit, data were collected on the date of appearance of any of the components of the composite outcome (discussed herein), any new diagnosis (eg, presence of new tumors), changes in BMI and average hours of CPAP use, and appearance of new risk factors for melanoma.

CPAP Treatment

Treatment with CPAP was initiated following the national guidelines.²⁴ Patients underwent an educational set of sessions to optimize adherence to treatment following the standard protocols of each center. A CPAP titration sleep study was performed to determine optimal CPAP pressure.²⁹ Good adherence was defined as > 4 h/night of use during follow-up.²⁷

End Points

The primary end point was a composite outcome consisting of the first appearance of one of three components: melanoma recurrence, presence of systemic metastasis (including new sentinel node involvement), and all-cause mortality.

Statistical Analysis

Quantitative variables were tabulated as mean $\pm$ SD, whereas qualitative or dichotomous variables were tabulated as absolute values and percentages of the total. To determine the distribution of the variables, the Kolmogorov-Smirnov test was used. For the comparison between the groups, depending on the presence of the disease, the severity of the disease (if present) and the treatment with CPAP (if prescribed), an analysis of variance or Kruskal-Wallis test was used. For the comparison between the group that had or did not have the composite outcome, a Student *t* test, Mann-Whitney *U* test, or χ^2 test was used depending of the distribution of the variables. The association between the presence of the disease, the severity of the disease (if present) and the treatment with CPAP (if prescribed) and the composite outcome was made using Kaplan-Meier curves with comparison of the groups according to the log-rank test. For the full-adjusted multivariate analysis, the Cox survival test was used. Patients were censored when the first event of the composite outcome occurred. The variables introduced in the multivariate analysis were determined according to their clinical and statistical significance (in the opinion of the authors) in the comparison between the groups, depending on the presence and severity of OSA and CPAP adherence. Finally, we introduced the concept of *e*-value aimed to analyze the potential effect of unmeasured confounders in the association among the four study groups and the composite outcome, following the methodology described by VanderWeele and Ding.³⁰ Briefly, the *e*-value is the minimum strength of association, on the risk ratio scale, that an unmeasured confounder would need to have with both the study's variable and outcome, conditional on the measured covariates, to explain away fully a specific association between a variable and an outcome. The lowest possible *e*-value is 1 (ie, no unmeasured confounding is needed to explain away the observed association). The higher the *e*-value, the stronger the confounder associations must be to explain away the effect; therefore, the smallest *e*-value regarding the risk variable that is used, the lesser the impact of unmeasured confounders in the final results will be.

The sample size was calculated based on the probability of recurrence, metastasis, or death during the first 5 years after cutaneous melanoma diagnosis, which is 20% to 30%, depending on the published series.^{31,32} An a priori loss to follow-up of patients of 20% was assumed. For an α error of 0.05 and a statistical power of 20%, a total of 89 to 120 total events were necessary for the comparison of four groups of patients with a minimum of 50 patients per group. A *P* value of < .05 was considered significant, and SPSS version 20.0 software (IBM Corp.) was used for all analyses.

Results

Baseline Characteristics

Of the 443 patients who received a diagnosis of cutaneous melanoma between October 2012 and September 2015 who initially were included in the

cross-sectional study, 391 patients (88.2%) completed the study after 60 months (interquartile range, 51-74 months) of follow-up. The mean age of the entire group was 65.1 ± 15.2 years, with 49% being male. The mean Breslow value was 1.7 ± 2.5 mm and

the mean AHI was 14.6 ± 1.2 events/h (64.9% with an AHI of ≥ 5 events/h and 14.6% with an AHI of ≥ 30 events/h). The oxygen desaturation index was 15.7 ± 33.9 events/h. Sixty-six patients (16.9%) demonstrated evidence of sentinel node involvement at the time of diagnosis. The median time between the cutaneous melanoma diagnosis and the sleep study recording was 83 days (interquartile range, 51-118 days). No significant changes in BMI were observed throughout the study (27.4 ± 4.6 kg/m² vs 28.1 ± 4.7 kg/m²; $P = .34$) in any of the four studied groups. Forty-three percent of patients received isolated or combined treatment with chemotherapy, radiotherapy, or both during follow-up.

Based on the presence of OSA, 139 patients showed a baseline AHI of fewer than 10 events/h; 78 patients showed moderate or severe OSA and were treated with CPAP with evidence of good adherence; 124 patients showed moderate OSA (AHI, 10-29 events/h) and were either not treated or had negligible adherence to CPAP; and 50 patients had severe OSA and were either without CPAP treatment or had poor adherence to CPAP (Fig 1). The baseline characteristics of these 391 patients, according to the presence of OSA, the severity of OSA, and the

adherence to CPAP treatment, are presented in Table 1. Of note, CPAP treatment initially was prescribed for 128 patients (32.7%) and was well tolerated at the end of the study by 78 patients (60.9%) with a mean use of 4.7 ± 2.3 h.

A total of 116 patients experienced least one event of the composite outcome. Thirty-two melanoma recurrences, 53 melanoma metastases (including new sentinel node involvement), and 52 deaths occurred. Forty-eight deaths were related directly to melanoma metastasis. Other causes of deaths were two ischemic strokes, one patient with advanced Alzheimer's disease with pneumonia, and two patients with sepsis. Twenty-two events occurred in the non-OSA group, 43 events occurred in the moderate nontreated OSA group, 36 events occurred in the nontreated severe OSA group, and 15 events occurred in the CPAP-treated OSA group.

Survival Analysis

According to the Kaplan-Meier curve and the log-rank test, those patients with severe OSA (AHI, ≥ 30 events/h) not treated with CPAP or with poor adherence to this treatment showed a significantly higher incidence of the

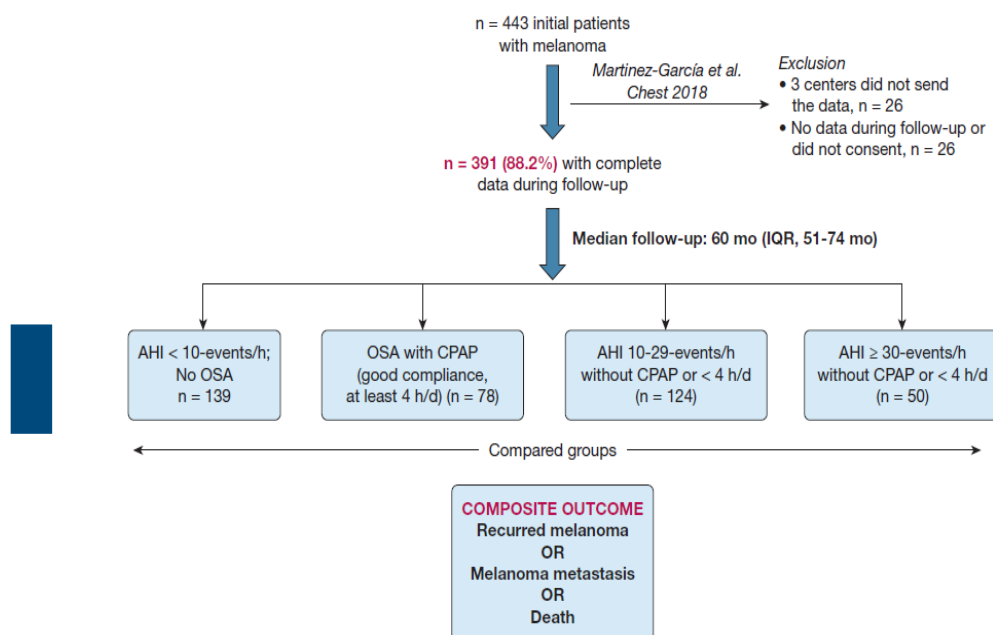


Figure 1 - Flowchart showing study progression. AHI = apnea-hypopnea index; IQR = interquartile range.

TABLE 1 | Baseline and Follow-up Characteristics of the Four Study Groups

Variable	AHI < 10 Events/h (n = 139)	Moderate OSA Without CPAP (n = 124)	Severe OSA Without CPAP (n = 50)	OSA With CPAP (n = 78)	P Value (ANOVA)
Baseline characteristics					
Age, y	46.3 ± 13	58.4 ± 14	65.3 ± 11.8	64.3 ± 12.8	< .001
Sex, % male	36	51	58	75	< .001
BMI, kg/m ²	25.2 ± 3.6	28 ± 4.5	29 ± 4	29.4 ± 4.7	< .001
Tobacco use history, pack-y	7.9 ± 12.7	10.1 ± 16.9	11 ± 16.9	12.9 ± 20.9	.207
Previous skin cancer, %	5.7	11.3	18	12.9	.072
Chronic respiratory disease, %	6.4	10.5	8	6.5	.627
Diabetes, %	7.1	8.1	22	16.9	.008
Breslow index, mm	1.1 ± 1.1	1.8 ± 2.3	3.4 ± 4.8	1.6 ± 1.7	< .001
Localized stage, %	90	81.5	62	92.3	< .001
Sentinel lymph affected, %	8	12	32	7	< .001
Epworth sleepiness scale	5.9 ± 3.6	5.5 ± 3.3	6.1 ± 4	6.5 ± 3.5	.273
> 10	16.5	12.1	20	18.2	.513
Baseline oxygen saturation	96.5 ± 1.7	95.8 ± 2.1	95.4 ± 2.2	95 ± 1.8	< .001
Mean nocturnal oxygen saturation	94.9 ± 1.6	93.7 ± 1.9	92.8 ± 2.2	91.8 ± 8	< .001
AHI, events/h	2.1 ± 1.5	10.1 ± 3.7	31.2 ± 9.9	32.6 ± 19.5	< .001
Oxygen desaturation index	3.7 ± 6.5	15.9 ± 20.3	29.2 ± 11.5	30.9 ± 19	< .001
Minimum oxygen saturation	88.4 ± 5.8	83.8 ± 5.8	77.7 ± 10.8	78.2 ± 12.3	< .001
Tsat90%	1.2 ± 4.9	4.8 ± 12.3	12.8 ± 16.7	11.4 ± 16.7	< .001
Follow-up parameters					
BMI at the end, kg/m ²	25.3 ± 3.7	27.8 ± 4.6	29 ± 3.7	29.8 ± 4.6	< .001
CPAP initiation, %	0	3	41	57	< .001
CPAP use, h/d	...	0.7 ± 0.6	1.4 ± 1.2	6.1 ± 1.1	< .001
Epworth sleepiness scale	6.1 ± 3.6	5.7 ± 3.6	5.1 ± 3.6	5.1 ± 3.6	.332

Data are presented as percentage or mean ± SD. AHI = apnea-hypopnea index; ANOVA = analysis of variance; Tsat90% = nighttime with an oxygen saturation below 90%.

composite outcome when compared with the other groups; χ^2 , 19.1 ($P < .0001$) compared with the control group; χ^2 , 24.1 ($P < .0001$) compared with the group with adherent CPAP treatment, and χ^2 , 6.1 ($P = .014$) compared with the group with untreated moderate OSA. Moreover, the group with untreated moderate OSA exhibited an increased risk of the composite outcome compared with the control group and the CPAP-treated group (χ^2 , 3.7 [$P = .048$] and 5.2 [$P = .022$]). No differences were found between the control group without OSA and the OSA group treated with CPAP (χ^2 , 0.03; $P = .861$) (Fig 2).

Table 2 shows the Cox multivariate analysis, which included age, sex, Breslow index, BMI, Tsat90%, diabetes, sentinel lymph node involvement at diagnosis, lack of melanoma treatment by any method, and Epworth sleepiness scale score (a standard numerical indicator of subjective somnolence) as variables. Older age, higher Breslow index, sentinel lymph node involvement at diagnosis, lack of treatment by any method (this was the variable that presented the greatest association with poorer prognosis), and the presence of moderate to severe OSA not treated with CPAP (or with poor adherence) were associated independently with

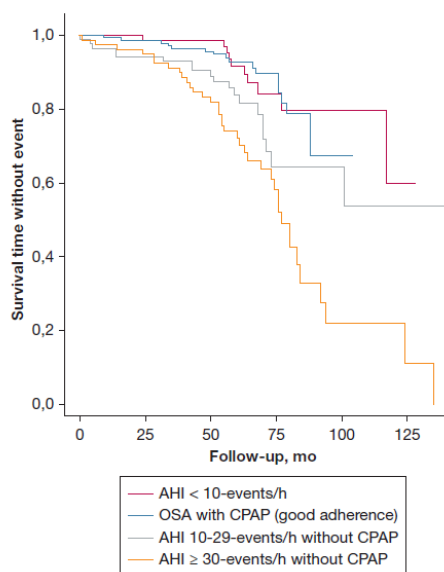


Figure 2 – Kaplan-Meier curve showing the presence, severity, and treatment of OSA and the survival time without the presence of the composite outcome. AHI = apnea-hypopnea index.

higher risk the composite outcome. Thus, the risk of occurrence of the composite outcome in severe OSA not treated with CPAP was almost threefold higher than in the control group without OSA and 2.5-fold higher in the group with moderate OSA. However, the group with OSA that was well treated with CPAP did not show any evidence of increased risk when compared with the group without OSA. The relatively low e-values regarding the hazard ratio values suggest that

unmeasured confounders would not change the results significantly. All results were superimposable when using oxygen desaturation index values instead of AHI with similar cutoff points.

Discussion

In the present study, we showed that those patients with cutaneous melanoma and either untreated OSA or poor adherence to CPAP treatment demonstrated worse tumor prognosis 5 years after diagnosis. However, those patients with melanoma and OSA who satisfactorily adhered to CPAP therapy did not demonstrate evidence of excess risk for the composite adverse outcome when compared with the control group (ie, melanoma without OSA).

A significant number of bench-based studies have explored possible mechanisms linking OSA to a higher incidence or aggressiveness of cancer and most, if not all, have provided robust biological plausibility for this assumption,^{13,33} with the vast majority of studies being focused on IH models. However, the clinical studies have yielded controversial results.³⁴ This is possibly because of the different methodologies used in these studies,^{13,34} the heterogeneous responses to IH of the various tumor cell lines studied,^{17,35} or the lack of adjustment to important confounders.²⁶ Among the different types of cancer that have been explored to date, melanoma is possibly one of the most robustly associated with the presence of OSA in short-term cross-sectional studies.¹³ Conversely, a recent study evaluated overall cancer incidence differences between patients who are adherent and nonadherent to CPAP,³⁶ and although a trend toward an increased incidence of cancer in those patients with low or no adherence was observed, the conclusions of this prospective study do

TABLE 2 | Multivariate Cox Analysis Incorporating Variables Independently Associated With a Greater Risk for the Composite Study Outcome (Tumor Recurrence, Metastasis, and Death)

Variable	HR	95% CI	P Value	E-Value
Age, y	1.04	1.02-1.06	< .001	...
Breslow index, mm	1.05	1.02-1.09	.001	...
Centinel lymph node affected	2.09	1.03-4.25	.011	...
Lack of chemotherapy or radiotherapy	3.37	2.34-5.06	< .001	...
OSA-CPAP group				
No OSA (AHI < 10 events/h)	...	...	...	...
OSA with CPAP	1.66	0.71-3.90	.241	1.22
AHI between 11 and 29 without CPAP	2.45	1.09-5.49	.029	1.25
AHI ≥ 30 events/h without CPAP	2.96	1.36-6.42	.006	1.46

AHI = apnea-hypopnea index; HR = hazard ratio.

not provide a definitive answer. We should point out that this was a retrospective study in which data from a health administrative database was used, and the study did not focus on a specific type of cancer. As such, we are unaware of any long-term prospective study focused on assessing the impact of OSA and CPAP treatment on the outcomes of a specific type of cancer, and the current study aimed to provide initial evidence of this effect.

The current cohort reflects the continuation of our cross-sectional analysis of 443 patients with cutaneous melanoma that revealed that the presence of OSA was associated with more aggressive forms of the tumor.²⁴ Five years later, careful follow-up of these patients continues to point in the same direction, because untreated OSA is associated with a worse prognosis of melanoma independent of the patient's age; sex; or the presence of obesity, diabetes, or somnolence and also independent of the initial aggressiveness staging of the tumor (according to the Breslow index and sentinel node involvement), persistent nocturnal desaturation according to the Tsat90% value, or the treatment selected and administered for melanoma. In addition, it also was observed that good adherence to CPAP treatment normalized this excess risk to values similar to those of a control group with cutaneous melanoma but without OSA. It is likely that the favorable response to CPAP may reflect the fact that a large proportion of melanoma tumors are responsive to IH in both animal and clinical models.¹³ Thus, the probability of a favorable response to CPAP on elimination of IH by CPAP treatment with good adherence may have been potentiated relative to the effects that would be anticipated in other tumors, because the latter may exhibit a more heterogeneous response to IH.³⁵ In support of this assumption is the observation that when using the oxygen desaturation index instead of the AHI, the results were superimposable, suggesting that the fundamental mechanism by which OSA promotes a worse prognosis of cutaneous melanoma primarily is related to IH and its consequences.

Among the strengths of the present study, it should be noted that it is the first to use a long-term prospective design to evaluate the impact of OSA on a specific type of tumor, in this case cutaneous melanoma, and also the first to evaluate the effect of CPAP treatment on prognosis. Furthermore, a 5-year follow-up was achieved in almost 90% of the patients. Finally, in Spain, CPAP is reimbursed for all patients; therefore, the study has no population bias. Despite such obvious strengths, some limitations deserve mention, with the most important

being the impact of the substantial heterogeneity of pharmacologic, surgical, or radiologic interventions received by patients throughout the course of the follow-up period. For this reason, the type of treatment for cutaneous melanoma was included in the multivariate analysis, and in fact, the lack of chemotherapy or radiotherapy treatment was the dichotomous variable that was associated most strongly with a worse prognosis of cutaneous melanoma. However, notwithstanding this obvious limitation, we believe that the multivariate regression analysis is robust despite this limitation because those variables known for their well-established association with enhanced melanoma aggressiveness such as older age, higher Breslow index, or the presence of sentinel node involvement³⁷ also emerged as independent risk factors for poor prognosis in our study. Of note, we used the data from the sleep studies that were performed at the time of cutaneous melanoma diagnosis, and although no significant changes in BMI were observed during follow-up, we cannot exclude that changes in the presence or severity of OSA might have occurred over time. Finally, a composite outcome made up of tumor recurrence, death, and appearance of metastases was used as a poor prognosis outcome, and this approach was dictated by the lack of statistical power that would be generated if each of these outcomes were analyzed separately. We decided to include all-cause mortality instead of melanoma-related mortality in the composite outcomes because the vast majority of patients died of melanoma metastasis and only five patients died of other causes, including ischemic stroke ($n = 2$), sepsis ($n = 2$), and pneumonia ($n = 1$).

Interpretation

The presence of OSA emerges as a new risk factor for a poor long-term prognosis of cutaneous melanoma. However, if underlying OSA is treated with CPAP and patients adhere to CPAP, the risk imposed by OSA on cutaneous melanoma outcomes is normalized. Future larger studies clearly are necessary to corroborate our results and to analyze more specific prognostic outcomes while incorporating more precise clinical phenotypes.

Funding/Support

This study was supported by the Fondo de Investigación Sanitaria [Grant PI16/01772].

Financial/Nonfinancial Disclosures

None declared.

Acknowledgments

Author contributions: M. A. M.-G. is the guarantor of the content of the manuscript, including data and analysis. J. D. G.-O., M. A. M.-G., F. C.-R., E. N., I. A., R. F., and D. G. contributed to conception and design of the study. M. A. M.-G., F. C.-R., E. N., A. M., L. H., F. G.-R., C. Cubillo, J. B., E. A., P. O., V. C., J. G., J. M. M., C. Carrera, J. F.-M., J. G. d. T., J. A., A. B., O. M., M. C.-G., E. C., P. L., M. M., A. F., F. B., M. S.-d.-L.-T., I. C., C. G., A. P.-G., T. G.-G., D. C., M. S., M. F., G. O., and A. G.-O. contributed to acquisition and interpretation of data. F. A. contributed to statistical analysis. All authors contributed to drafting of the manuscript and critical revision of major intellectual content. All authors gave final approval of the version to be published.

Role of sponsors: The sponsor (Fondo de Investigación Sanitaria) had no role in any of the editorial or research parts of the manuscript.

*Spanish Sleep Network collaborators:

Isabel Betloch, MD, Dermatology Department, Hospital General Universitario de Alicante; Manuel Moragon, MD, Dermatology Department, Hospital San Juan de Alicante; Esther Pastor, MD, Pneumology Service, Hospital San Juan de Alicante; Veronica Velasco, MD, Pathology Department, Hospital de Cruces de Bilbao; Amaia Urrutia, MD, Respiratory Department, Hospital de Cruces de Bilbao; E. Viejo-Ayuso, Respiratory Department, Hospital Universitario General de Guadalajara, Guadalajara; Zulzly Vasquez, MD, Respiratory Department, Hospital de Getafe, Getafe; Jose Antonio Aramburu, MD, Anatomic Pathology Department, Hospital de Getafe, Getafe; Aida Munoz, MD, Respiratory Department, Hospital Germans Trias i Pujol; M. Angeles Gonzalez, MD, Anatomic Pathology Department, Hospital San Pedro de Alcantara, Caceres; Joan Dalmau, MD, Dermatology Department, Hospital de Santa Creu i Sant Pau, Barcelona; Rosa M. Marti, MD, Dermatology Department, Hospital Arnau de Vilanova, Lleida; Ana Mozos, MD, Anatomic Pathology Department, Hospital de Santa Creu i Sant Pau, Barcelona; Erika Miranda, MD, Biostatistical Service, BioAraba, Health Research Institute, OSI Araba University Hospital, Basque Health Service; Maider Mateos, MD, Biostatistical Service, BioAraba, Health Research Institute, OSI Araba University Hospital, Basque Health Service; Paula Rodriguez, MD, Respiratory Department, Fundacion Jimenez Diaz, Madrid; Ma Fernanda Troncoso, MD, Respiratory Department, Fundacion Jimenez Diaz, Madrid, CIBER de Enfermedades Respiratorias, Madrid; Monica de la Pena, MD, Respiratory Department, Hospital Son Espases, Palma de Mallorca; Luis Javier del Pozo, Dermatology Department, Hospital Son Espases, Palma de Mallorca; Monica Gonzalez, MD, Respiratory Department, Hospital Marques de Valdecilla, Santander; Pilar Manchado, MD, Dermatology

Department, Hospital Clinico Universitario de Valladolid; Santiago Antonio Juarros, MD, Respiratory Department, Hospital Clinico Universitario de Valladolid; Julian Caballero, MD, Respiratory Department, Hospital Morales Meseguer, MD, Murcia; Eduardo Alcaraz, MD, Anatomic Pathology Department, Hospital Morales Meseguer, Murcia; Andrea Crespo, MD, Respiratory Department, Hospital Rio Hortega, Valladolid; Jesus Martin, Anatomic Pathology Department, Hospital Rio Hortega, Valladolid; Lorena Comeche, MD, Respiratory Department, Hospital Universitario Quironsalud, Madrid; Martina Ales, Dermatology Department, Hospital Universitario Quironsalud, Madrid; Monica Llombart, MD, Respiratory Department, Hospital Marina Baixa, Alicante; Maria Perez-Crespo, MD, Dermatology Department, Hospital Marina Baixa, Alicante; Bienvenido Barreiro, MD, Respiratory Department, Hospital Mutua Terrassa, Barcelona; Neus Curco, MD, Dermatology Department, Hospital Mutua Terrassa, Barcelona; Olga Cantalejo, MD, Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Santander; Nuria Reyes-Nunez, MD, Respiratory Department, Hospital de Valme, Sevilla; Antonio Cruz-Medina, MD, Respiratory Department, Hospital Valme, Sevilla; Raquel Catala, MD, Respiratory Department, IISPV, Universitat Rovira i Virgili, Reus; Antonio Azon, MD, Dermatology Department, Universitat Rovira i Virgili, Reus; Nuria Grau, Respiratory Department, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mediques, and Sonia Segura, Dermatology Department, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mediques, Spain.

Additional information: Coauthor Felipe Aizpuru, MD, is deceased. The e-Table is available online under "Supplementary Data."

References

- Romero-Peralta S, García-Río F, Resano Barrio P, et al. Defining the heterogeneity of sleep apnea syndrome: a cluster analysis with implications for patient management. *Arch Bronconeumol*. 2022;58(2):125-134.
- Eckert DJ, Malhotra A. Pathophysiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5(2):144-153.
- García-Río F, Alcázar-Navarrete B, Castillo-Villegas D, et al. Biological biomarkers in respiratory diseases. *Arch Bronconeumol*. 2022;58(4):323-333.
- Gozal D, Ham SA, Mokhlesi B. Sleep apnea and cancer: analysis of a nationwide population sample. *Sleep*. 2016;39:1493-1500.
- Cheng L, Guo H, Zhang Z, Yao Y, Yao Q. Obstructive sleep apnea and incidence of malignant tumors: a meta-analysis. *Sleep Med*. 2021;84:195-204.
- Chen MX, Cen LD, Zeng A, et al. Obstructive sleep apnea and the risk of mortality in patients with lung cancer: a meta-analysis. *Sleep Breath*. 2022;26(2):559-566.
- Tan NKW, Yap DWT, Tan BKY, et al. The association of obstructive sleep apnea with melanoma incidence and mortality: a meta-analysis of 5,276,451 patients. *Sleep Med*. 2021;88:213-220.
- Tan BKY, Tan NKW, Teo YH, et al. Association of obstructive sleep apnea with thyroid cancer incidence: a systematic review and meta-analysis [published online ahead of print June 16, 2022]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. <https://doi.org/10.1007/s00405-022-07457-w>.
- Wei L, Han N, Sun S, Ma X, Zhang Y. Sleep-disordered breathing and risk of the breast cancer: a meta-analysis of cohort studies. *Int J Clin Pract*. 2021;75(11):e14793.
- Yap DWT, Tan NKW, Tan BKY, et al. The association of obstructive sleep apnea with breast cancer incidence and mortality: a systematic review and meta-analysis. *J Breast Cancer*. 2022;25(3):149-163.
- Cheong AJ, Tan BKY, Teo YH, et al. Obstructive sleep apnea and lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Am Thorac Soc*. 2022;19(3):469-475.
- Ma H, Zhang X, Han J, Li F. Sleep-disordered breathing and risk of lung cancer: a meta-analysis longitudinal follow-up studies. *Eur J Cancer Prev*. 2022;31(3):245-252.
- Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, Almendros I, et al. Cancer and sleep apnea: cutaneous melanoma as a case study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(11):1345-1353.
- Martínez-García MA, Martorell-Calatayud A, Nagore E, et al. Association between sleep disordered breathing and aggressiveness markers of malignant cutaneous melanoma. *Eur Respir J*. 2014;43(6):1661-1668.
- Almendros I, Montserrat JM, Torres M, et al. Intermittent hypoxia increases melanoma metastasis to the lung in a mouse model of sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;186(3):303-307.
- Li L, Ren F, Qi C, et al. Intermittent hypoxia promotes melanoma lung metastasis via oxidative stress and inflammation responses in a mouse model of obstructive sleep apnea. *Respir Res*. 2018;19(1):28.
- Khalyfa A, Trzepizur W, Gileles-Hillel A, et al. Heterogeneity of melanoma cell responses to sleep apnea-derived plasma exosomes and to intermittent hypoxia. *Cancers (Basel)*. 2021;13(19):4781.
- Cubillos-Zapata C, Martínez-García MA, Díaz-García E, et al. Proangiogenic factor midkine is increased in melanoma patients with sleep apnea and induces tumor cell proliferation. *Spanish Sleep Network. FASEB J*. 2020;34(12):16179-16190.
- Cubillos-Zapata C, Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, et al. Soluble PD-L1 is a potential biomarker of cutaneous melanoma aggressiveness and metastasis in obstructive sleep apnea patients. *Eur Respir J*. 2019;53(2):1801298.

20. Santamaria-Martos F, Benítez I, Girón C, et al. Biomarkers of carcinogenesis and tumour growth in patients with cutaneous melanoma and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2018;51(3): 1701885.
21. Almendros I, Martínez-García MÁ, Campos-Rodríguez F, et al. Intermittent hypoxia is associated with high hypoxia inducible factor-1 α but not high vascular endothelial growth factor cell expression in tumors of cutaneous melanoma patients. *Front Neurol*. 2018;9:272.
22. Gómez Olivas JD, Campos-Rodríguez F, Nagore E, et al. Sleep duration and cutaneous melanoma aggressiveness. A prospective observational study in 443 patients. *Arch Bronconeumol*. 2021;57(12): 776-778.
23. Cubillos-Zapata C, Martínez-García MÁ, Díaz-García E, et al. Obesity attenuates the effect of sleep apnea on active TGF- β 1 levels and tumor aggressiveness in patients with melanoma. *Sci Rep*. 2020;10(1):15528.
24. Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, Nagore E, et al. Sleep-disordered breathing is independently associated with increased aggressiveness of cutaneous melanoma: a multicenter observational study in 443 patients. *Chest*. 2018;154(6):1348-1358.
25. Minovès M, Pépin JL, Godin-Ribuot D. Targeting intermittent hypoxia downstream pathways for biomarker discovery and new treatment perspectives in cutaneous melanoma. *Eur Respir J*. 2019;53(2):1802444.
26. Almendros I, Martínez-García MA, Farré R, Gozal D. Obesity, sleep apnea, and cancer. *Int J Obes (Lond)*. 2020;44(8):1653-1667.
27. Mediano O, González Mangado N, Montserrat JM, et al. International consensus document on obstructive sleep apnea. *Arch Bronconeumol*. 2022;58(1): 52-68.
28. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(6):1471-1474.
29. Masa JF, Jiménez A, Durán J, et al. Alternative methods of titrating continuous positive airway pressure: a large multicenter study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170(11):1218-1224.
30. VanderWeele TJ, Ding P. Sensitivity analysis in observational research: introducing the E-value. *Ann Intern Med*. 2017;167(4):268-274.
31. Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of melanoma. *Med Sci*. 2021;9(4):63.
32. Von Schuckmann LA, Hughes MCB, Ghiasvand R, et al. Risk of melanoma recurrence after diagnosis of a high-risk primary tumor. *JAMA Dermatol*. 2019;155(6):688-693.
33. Gozal D, Farré R, Nieto FJ. Putative links between sleep apnea and cancer: from hypotheses to evolving evidence. *Chest*. 2015;148(5):1140-1147.
34. Marrone O, Bonsignore MR. Obstructive sleep apnea and cancer: a complex relationship. *Curr Opin Pulm Med*. 2020;26(6):657-667.
35. Marhuenda E, Campillo N, Gabasa M, et al. Effects of sustained and intermittent hypoxia on human lung cancer cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2019;61(4):540-544.
36. Justeau G, Bailly S, Gervès-Pinquier C, et al; ERMES Study Group. Cancer risk in patients with sleep apnoea following adherent 5-year CPAP therapy. *Eur Respir J*. 2022;59(4):2101935.
37. Buja A, Bardin A, Damiani G, et al. Prognosis for cutaneous melanoma by clinical and pathological profile: a population-based study. *Front Oncol*. 2021;11:737399.

ulus for carefully designed studies that assess the inclusion of SpO₂ in the conventional criteria for high-risk patients.

Funding

No funding was received for this manuscript.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interests directly or indirectly related with the contents of this manuscript.

References

- Miravittles M, Soler-Cataluña JJ, Calle M, Molina J, Almagro P, Quintano JA, et al. Guía española de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (GesEPOC) 2017. Tratamiento farmacológico en fase estable. Arch Bronconeumol. 2017;53:324–5.
- Cabrera López C, Casanova Macario C, Marín Trigo JM, de-Torres JP, Torres RS, González JM, et al. Prognostic validation using GesEPOC 2017 severity criteria. Arch Bronconeumol. 2019;55:409–13.
- Golpe R, Suárez-Valor M, Castro-Ahón O, Pérez-de-Llano LA. Risk stratification in chronic obstructive pulmonary disease. Can the Spanish Guidelines be improved? Arch Bronconeumol. 2018;54:533–5.
- Continuous or nocturnal oxygen therapy in hypoxemic chronic obstructive lung disease: a clinical trial. Nocturnal Oxygen Therapy Trial Group. Ann Intern Med. 1980;93:391–8.
- Lee WW, Mayberry K, Crapo R, Jensen RL. The accuracy of pulse oximetry in the emergency department. Am J Emerg Med. 2000;18:427–31.
- García-Gutiérrez S, Unzueta Z, Arostegui I, Quintana JM, Pulido E, Gallardo MS, et al. The use of pulse oximetry to determine hypoxemia in acute exacerbations of COPD. COPD. 2015;12:613–20.
- Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD. Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD). 2019 Report [accessed 31 de August 2020]. Available from: <https://goldcopd.org/wpcontent/uploads/2018/11/GOLD-2019-v1.7-FINAL-14Nov2018-WMS.pdf>.
- Kim V, Benditt JO, Wise RA, Sharafkhaneh A. Oxygen therapy in chronic obstructive pulmonary disease. Proc Am Thorac Soc. 2008;5:513–8.
- Gibson GJ. Clinical Tests of Respiratory Function. 3rd ed London: Hodder Arnold; 2009.
- Flenley DC, Franklin DH, Millar JS. The hypoxic drive to breathing in chronic bronchitis and emphysema. Clin Sci. 1970;38:503–18.
- Macrea MM, Owens RL, Martin T, Smith D, Oursler KK, Malhotra A. The effect of isolated nocturnal oxygen desaturations on serum hs-CRP and IL-6 in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Clin Respir J. 2019;13:120–4.
- Gologanu D, Ionita D, Dahi I, Barbu M, Croitoru A, Bogdan M. Benefits of pulmonary rehabilitation on exercise desaturation in COPD patients. Eur Respir J. 2014;44:629.
- Lehmann S, Ringbaek T, Løkke A, Grote L, Hedner J, Lindberg E. A randomized trial to determine the impact of indacaterol/glycopyrronium on nighttime oxygenation and symptoms in patients with moderate-to-severe COPD: the DuoSleep study. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2019;14:199–210.
- Sposito B, Franco C. Short term effect of a single dose of formoterol or tiotropium on the isolated nocturnal hypoxemia in stable COPD patients: a double blind randomized study. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2008;12:203–11.
- Canto ND, Ribeiro JP, Neder JA, Chiappa GR. Addition of tiotropium to formoterol improves inspiratory muscle strength after exercise in COPD. Respir Med. 2012;106:1404–12.

Juan Marco Figueira Gonçalves^{a,*}, Rafael Golpe^{b,c},
Yolanda Ramallo^{d,e}, Ignacio García Talavera^a, David Dacal^b

^a Servicio de Neumología y Cirugía Torácica, Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, Spain

^b Servicio de Neumología, Hospital Universitario Lucus Augusti, Lugo, Spain

^c Grupo C039 Biodiscovery HULA-USC, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, La Coruña, Spain

^d Fundación Canaria Instituto de Investigación Sanitaria de Canarias (FIISC), Santa Cruz de Tenerife, Spain

^e Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas (REDISSEC), Madrid, Spain

* Corresponding author.

E-mail address: juanmarcofigueira@gmail.com (J.M. Figueira Gonçalves).

<https://doi.org/10.1016/j.arbr.2021.10.004>

1579-2129/ © 2020 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Sleep Duration and Cutaneous Melanoma Aggressiveness. A Prospective Observational Study in 443 Patients



Duración del sueño y agresividad del melanoma cutáneo. Un estudio observacional prospectivo con 443 pacientes

Dear Editor,

Both short and long sleep duration have been associated with an increased prevalence and incidence of cancer,^{1,2} but its relationship with cancer aggressiveness remains unknown. We have previously described an association between cutaneous melanoma and sleep-disordered breathing based on a prospective multicentric cohort.³ In the present paper, we describe the results of a post-hoc analysis aiming to evaluate the association between subjective sleep duration and objective parameters of melanoma aggressiveness.

This is an observational, cross-sectional, multicenter study that included 443 consecutive patients with a diagnosis of melanoma from 29 Spanish hospitals. Patients were excluded if they had in situ melanoma or had received previous treatment with continuous positive airway pressure. The study was approved by the ethics committees of all the hospitals, and all the patients gave their informed consent. Each patient completed a clinical questionnaire which included anthropometric measurements, relevant antecedents, medication, sleep apnea symptoms, presence of insomnia and somnolence (Epworth Sleepiness Scale).

Sleep duration was assessed by asking the patients the following question: How many hours of sleep (including naps) have you had on average in a 24-h period during the last year (year prior to the diagnosis of melanoma)? Participants estimated habitual sleep duration using full hour units. Snoring time was also quantified in the sleep study records.

All patients underwent a sleep study by means of a home respiratory polygraphy and a peripheral blood test. Patients were divided into three groups depending on their daily sleep duration: appropriate sleep duration (between 6 and 8 h), short sleepers (<6 h) and long sleep duration (>8 h). The independent relationship between melanoma aggressiveness factors and sleep duration was determined by introducing into a multivariate logistical regression analysis those variables which could, in the opinion of the researchers, also have clinical importance as confounders: age, sex, AHI, BMI and hypnotics intake. This relationship was evaluated by Hazard Ratio (CI95%), considering the group of patients with appropriate sleep duration as the control group. The degree of melanoma aggressiveness was measured by histological variables such as the Breslow thickness, the tumor mitotic rate (≥ 5 vs. < 5 mitoses per mm²), the histological presence of ulceration and regression and positive sentinel lymph node (SLN) involvement. The cut-off points for the Breslow thickness were established at 1, 2 and 4 mm, according to international guidelines.⁴

443 patients were finally included in the study. Mean age was 55.9 ± 15.3 years, and 50.6% were male. The mean BMI was 27.3 ± 4.5 kg/m² and the median Epworth score was 6 (IQR: 3–8). The median of the Breslow thickness was 0.85 mm (IQR: 0.49–1.80). A Breslow thickness above 1, 2 and 4 mm was found in, respectively, 44, 22.3 and 8.8% of the patients. Ulceration was present in 16%, regression in 23.3%, and SLN was positive in 10.6% of patients. The median AHI was 8.6 (IQR: 2.8–20.2). The mean sleep duration was 7.4 ± 1.27 h, with 4.7% sleeping <6 h, 77.9% between 6 and 8 h and 17.4% >8 h. 8.4% of the patients presented insomnia and 12% were taking hypnotic drugs. The sleep study time was 7.2 h (IQR: 6.6–8) and the snoring study time was 6.9 h (IQR: 6.5–7.7). The correlation between subjective sleep duration and snoring study time was $r = 0.86$, $p < 0.0001$.

There was a statistically significant correlation between sleep duration and the Breslow index (r : 0.26; $p = 0.001$). Those patients with more aggressive melanoma (Breslow ≥ 2 mm vs < 2 mm, and

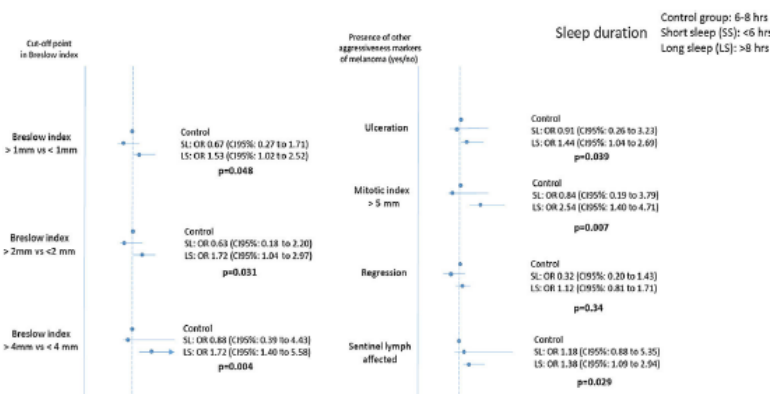


Fig. 1. Relationship between sleep duration and commonly used clinical markers of tumor aggressiveness in cutaneous melanoma. *p* values refer to sleep duration > 8 h versus control group (sleep duration between 6 and 8 h). Results were adjusted for age, sex, apnea-hypopnea index, body mass index, presence of insomnia and intake of hypnotics. SL: Short sleep; LS: Long Sleep.

Breslow ≥ 4 mm versus <4 mm) presented longer sleep duration (8.1 vs. 7.1 h; $p = 0.0001$ and 8.3 vs. 6.9 h; $p = 0.0001$, respectively). Long sleepers presented, in comparison with those patients who slept less than 8 h, a significant increase in various systemic markers of inflammation like high-sensitivity C-reactive protein (hs CRP) (2.35 [2.3] vs. 1.33 [2.5] mg/L; $p = 0.03$), fibrinogen concentration (392 [97.1] vs. 335 [92.7] mg/dL; $p = 0.01$) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) (17.4 [13.9] vs. 11.2 [9.1] mm/h; $p = 0.01$), as well as a higher AHI (19.8 [17.9] vs. 15.1 [16.1]; $p = 0.02$).

Fig. 1 shows that long sleepers were 1.53, 1.72 and 2.84 times more likely to present a more aggressive melanoma (Breslow index above 1, 2 and 4 mm) compared to the control group, after adjustment for age, gender, BMI, AHI, intake of hypnotic drugs and presence of insomnia. Similarly, long sleepers had an increased risk of SLN positive, presence of tumor ulceration and a high tumor mitotic rate.

As far as we know, this is the first study to analyze the relationship between longer sleep duration and the aggressiveness of a cancer. Of note, this association was not caused by the presence of confounders such as obesity, sleep apnea, age, gender, hypnotics intake or insomnia. Various mechanisms have been postulated to explain this relationship, including various deregulations of the immune system (especially reductions in natural killer cell activity),⁵ increased sleep fragmentation³ and increased systemic inflammation.^{6,7} In fact, our study shows that long sleepers presented greater systemic inflammation (increased levels of US-CRP, ESR and fibrinogen).

The main limitation of our study was the fact that the evaluation of sleep duration was subjective, as is the case in most of the similar studies published to date on this topic. However, there was a very strong correlation between the subjective sleep duration and the snoring study time (while the patients are supposed to be sleeping). Moreover, some authors⁸ have observed in large series that those patients with self-reported sleep > 7 h per night overestimated their real sleep duration by an average of 0.3 h, while this overestimate was even higher (1.3 h) in patients who slept < 5 h. These circumstances would minimize any error derived from our analysis since, even assuming this situation, the vast majority of the patients in our study would remain in the same analysis group. Moreover, the percentage of patients with abnormal

sleep time was 22%, which could affect the conclusions. Finally, we did not include the presence of anxiety or depression as a covariate, but we did include the intake of hypnotics and other psychotropic medication, which is closely associated with anxiety and depression.

In conclusion, we found for the first time a positive relationship between a long sleep duration and some markers of melanoma aggressiveness. Future studies are needed to investigate the main pathophysiological mechanisms that could explain this association and the prognostic relevance of this finding.

Funding

The authors have nothing to declare in relation to this manuscript.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Kakizaki M, Kuriyama S, Sone T, Ohmori-Matsuda K, Hozawa A, Nakaya N, et al. Sleep duration and the risk of breast cancer: the Ohsaki Cohort Study. *Br J Cancer*. 2008;99:1502–5.
- Zhang X, Giovannucci EL, Wu K, Gao X, Hu F, Ogino S, et al. Associations of self-reported sleep duration and snoring with colorectal cancer risk in men and women. *Sleep*. 2013;36:681–8.
- Martinez-Garcia MA, Campos-Rodriguez F, Nagore E, Martorell A, Rodriguez-Peralto JL, Riveiro-Falkenbach E, et al. Sleep-disordered breathing is independently associated with increased aggressiveness of cutaneous melanoma: a multicenter observational study in 443 patients. *Chest*. 2018;154:1348–58.
- Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI, et al. Melanoma staging: evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer Eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*. 2017;67:472–92.
- Born J, Lange T, Hansen K, Molle M, Fehm HL. Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. *J Immunol*. 1997;158:4454–64.
- Irwin MR, Olmstead R, Carroll JE. Sleep disturbance, sleep duration, and inflammation: a systematic review and meta-analysis of cohort studies and experimental sleep deprivation. *Biol Psychiatry*. 2016;80:40–52.

7. Patel SR, Zhu X, Storfer-Isser A, Mehra R, Jenny NS, Tracy R, et al. Sleep duration and biomarkers of inflammation. *Sleep*. 2009;32:200–4.
8. Lauderdale DS, Knutson KL, Yan LL, Liu K, Rathouz PJ. Sleep duration: how well do self-reported reflect objective measures? The CARDIA Sleep Study. *Epidemiology*. 2008;19:838–45.

Jose Daniel Gómez Olivas^a, Francisco Campos-Rodriguez^b,
Eduardo Nagore^c, Luis Hernández^d, Valentin Cabriada^e,
Jorge Abad^f, Olga Mediano^g, Esther Pastor^h, Eusebi Chiner^h,
Manuel Sanchez de la Torreⁱ, Irene Cano^j, Maria Somoza^k,
Alberto Garcia-Ortega^a, Grace Oscullo^a,
Miguel Angel Martinez-García^{a,*}

^a Pneumology Department. Hospital Universitario y Politecnico La Fe, Valencia, Spain

^b Pneumology Department Hospital Valme.IBIS, Sevilla, Spain

^c Oncology Department, Instituto Valenciano de Oncología, Spain

^d Pneumology Department Hospital General Alicante, Spain

^e Pneumology Department Hospital Cruces, Bilbao, Spain

^f Sleep Unit, Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain

^g Pneumology Department Hospital de Guadalajara, Spain

^h Pneumology Department Hospital San Juan Alicante, Spain

ⁱ Research Department, Hospital A. Vilanova, Lleida, Spain

^j Pneumology Department, Hospital Getafe, Madrid, Spain

^k Pneumology Department, Consorcio Sanitario Terrassa, Barcelona, Spain

* Corresponding author.

E-mail address: mianmartinezgarcia@gmail.com
(M.A. Martinez-García).

<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2020.10.020>

0300-2896/ © 2020 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Relationship between type 2 diabetes mellitus and markers of cutaneous melanoma aggressiveness: an observational multicentric study in 443 patients with melanoma

E. Nagore,^{1,2} M.A. Martínez-García ^{3,4} J.D. Gómez-Olivas,³ E. Manrique-Silva,^{1,2} A. Martorell,⁵ J. Bañuls,⁶ C. Carrera,⁷ P. Ortiz,⁸ J. Gardeazabal,⁹ A. Boada,¹⁰ E. de Eusebio,¹¹ E. Chiner,¹² C. González,¹³ A. Pérez-Gil,¹⁴ D. Cullen,¹⁵ M. Formigón,¹⁶ B. de Unamuno,¹⁷ C. Navarro-Soriano,³ A. Muriel¹⁸ and D. Gozal¹⁹

¹Dermatology Department, Instituto Valenciano de Oncología, Valencia, Spain

²School of Medicine, Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir, Valencia, Spain

³Pneumology Department and ¹⁷Dermatology Department, Hospital Universitario i Politécnico la Fe, Valencia, Spain

⁴CIBER de Enfermedades Respiratorias, ISCIII, Madrid, Spain

⁵Dermatology Department, Hospital de Manises, Valencia, Spain

⁶Dermatology Department, Hospital General de Alicante, Alicante, Spain

⁷Dermatology Department, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

⁸Dermatology Department, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain

⁹Dermatology Department, Hospital de Cruces, Bilbao, Spain

¹⁰Dermatology Department, Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain

¹¹Dermatology Department, Hospital Universitario de Guadalajara, Guadalajara, Spain

¹²Pneumology Department, Hospital San Juan de Alicante, Alicante, Spain

¹³Dermatology Department, Hospital d Getafe, Madrid, Spain

¹⁴Dermatology Department, Hospital de Valme, Seville, Spain

¹⁵Dermatology Department, Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

¹⁶Dermatology Department, Consorcio Sanitario Terrassa, Barcelona, Spain

¹⁸Biostatistic Unit, Hospital Ramón y Cajal, IRYCIS, CIBERESP, Nursery Department and Physiotherapy, Akadé University, Madrid, Spain

¹⁹Department of Child Health, University of Missouri, Columbia, MO, USA

Summary

Correspondence

Miguel Ángel Martínez-García.

Email: mianmartinezgarcia@gmail.com

Accepted for publication

11 January 2021

Funding sources

This study was supported by grants from the Fondo de Investigación Sanitaria (Grant PI16/01772), SEPAR and Red Respira.

Conflicts of interest

The authors declare they have no conflicts of interest.

E.N. and M.A.M.-G. contributed equally to this work.

DOI 10.1111/bjd.19813

Background Some studies have suggested a relationship between type 2 diabetes mellitus (T2DM) and increased incidence of melanoma. Efforts are under way to identify preventable and treatable factors associated with greater melanoma aggressiveness, but no studies to date have examined the relationship between T2DM and the aggressiveness of cutaneous melanoma at diagnosis.

Objectives To explore potential associations between T2DM, glycaemic control and metformin treatment and the aggressiveness of cutaneous melanoma.

Methods We conducted a cross-sectional multicentric study in 443 patients diagnosed with cutaneous melanoma. At diagnosis, all patients completed a standardized protocol, and a fasting blood sample was extracted to analyse their glucose levels, glycated haemoglobin concentration and markers of systemic inflammation. Melanoma characteristics and aggressiveness factors [Breslow thickness, ulceration, tumour mitotic rate (TMR), sentinel lymph node (SLN) involvement and tumour stage] were also recorded.

Results The mean (SD) age of the patients was 55.98 (15.3) years and 50.6% were male. The median Breslow thickness was 0.85 mm. In total, 48 (10.8%) patients were diagnosed with T2DM and this finding was associated with a Breslow thickness > 2 mm [odds ratio (OR) 2.6, 95% confidence interval (CI) 1.4–4.9; $P = 0.004$] and > 4 mm (OR 3.6, 95% CI 1.7–7.9; $P = 0.001$), TMR > 5 per mm² (OR 4.5, 95% CI 1.4–13.7; $P = 0.009$), SLN involvement (OR 2.3, 95% CI 1–5.7; $P = 0.038$) and tumour stages III–IV (vs. I–II) (OR 3.4, 95% CI 1.6–7.4; $P = 0.002$), after adjusting for age, sex, obesity, alcohol intake and

smoking habits. No significant associations emerged between glycated haemoglobin levels, metformin treatment and melanoma aggressiveness. Conclusions T2DM, rather than glycaemic control and metformin treatment, is associated with increased cutaneous melanoma aggressiveness at diagnosis.

What is already known about this topic?

- Some studies have suggested a relationship between type 2 diabetes mellitus (T2DM) and increased incidence of melanoma, at least in men, in addition to protective antitumoral activity as a result of metformin treatment.

What does this study add?

- This multicentric study of a large series of prospectively recruited and well-characterized patients with cutaneous melanoma shows, for the first time, that the presence of underlying T2DM, rather than metformin treatment, is associated with markers of increased tumour aggressiveness independently of confounders.
- Patients with melanoma and T2DM constitute a more aggressive phenotype of this tumour, unrelated to treatment with metformin.
- Melanoma prevention should be strengthened in patients with T2DM to minimize the negative impact of this metabolic disorder on melanoma aggressiveness.

Exposure to ultraviolet radiation is the major known environmental risk factor for the development of cutaneous melanoma. Other factors, such as obesity (among men), decreased physical activity, cigarette smoking and alcohol consumption might also contribute to its increasing incidence.^{1–5} Although the current clinical, molecular and histopathological markers provide insight into cutaneous melanoma outcomes, it is still an unpredictable disease.⁶

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) accounts for 90–95% of all diagnosed cases of diabetes and, in parallel with the worldwide escalation in the prevalence of obesity, T2DM is becoming increasingly common on a global scale.⁷ Patients with T2DM increasingly present several types of solid tumours, although there have also been reports of a paradoxical reduction in the incidence of prostate cancer.^{8–12}

However, the relationship between T2DM and cutaneous melanoma has scarcely been studied. A recent meta-analysis has suggested that T2DM represents a risk factor for melanoma, although the findings of each study included in the meta-analysis were inconsistent.¹³ Insulin resistance has recently been found to be associated with cutaneous melanoma,¹⁴ and hyperinsulinaemia, hyperglycaemia and fat-induced chronic inflammation have been suggested as plausible links between T2DM and cancer.¹⁵ Adipose tissue may play a role here, as supported by the positive correlation between obesity and cutaneous melanoma risk, at least in men.¹⁶

However, the potential contributions of T2DM and the effect of confounders such as age, obesity, alcohol intake, smoking habits, environmental factors, glycaemic control and diabetes treatment (especially metformin, given its putative

antitumoral activity)¹⁷ on the aggressiveness of cutaneous melanoma at the time of its detection and diagnosis have not been studied prospectively.

Therefore, we formulated a working hypothesis, whereby T2DM would be associated with greater cutaneous melanoma aggressiveness, based on the existing evidence that insulin resistance and secondary chronic hyperinsulinaemia and hyperleptinaemia (both key antecedents of T2DM), may stimulate faster tumour growth and promote metastases.^{18–20}

The objective of this study was to analyse potential associations between, on the one hand, T2DM, glycaemic control and diabetes treatment with metformin and, on the other, parameters influencing the aggressiveness of cutaneous malignant melanoma.

Patients and methods

Study design and participants

We designed a retrospective, observational cross-sectional study based on a cohort of 443 consecutive patients diagnosed with invasive cutaneous melanoma in the oncology or dermatology departments of 29 Spanish teaching hospitals, from October 2012 to September 2015, to analyse the relationship between sleep-disordered breathing and markers of melanoma aggressiveness.²¹ Patients with unknown primary, mucosal melanoma and/or multiple primary melanomas were excluded. The study was approved by the ethics committees of all the hospitals involved (main centre: La Fe University and Polytechnic Hospital; register number: 2012/0148) and all the patients gave their informed consent.

Data collection

General characteristics and diabetes diagnosis

All the participants completed a standardized protocol at diagnosis that included information on age, sex, anthropometric characteristics, antecedents of interest (including a past history of noncutaneous neoplasias, cardiovascular diseases or cardiovascular risk factors), smoking habits in pack-years, alcohol intake in g per day, any ongoing treatments and a fasting peripheral blood analysis covering glycated haemoglobin (HbA1c) and markers of systemic inflammation, such as fibrinogen (mg dL⁻¹), ultrasensitive C-reactive protein (US-CRP) (IU dL⁻¹) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) values. T2DM was diagnosed according to the recommendations of the World Health Organization as either the presence of fasting plasma glucose > 7.0 mmol L⁻¹ (126 mg dL) or venous glucose 2 h after the ingestion of a 75 g oral glucose load > 11.1 mmol L⁻¹ (200 mg dL), and a previous diagnosis from a physician of T2DM or treatment with either oral antidiabetic or exogenous insulin.²² Obesity was defined as a body mass index (BMI) > 30 kg m⁻².

Melanoma characteristics and aggressiveness factors

Melanoma characteristics were collected with reference to anatomical sites (head and neck, trunk, upper limb, lower limb and acral areas) and subtype (including superficial spreading, nodular, lentigo maligna and acral lentiginous melanoma). The following factors related to aggressiveness were collected: tumour thickness (Breslow thickness in mm), histological presence of ulceration, the tumour mitotic rate (TMR) (number of mitosis per mm², according to the 'hotspot' method), the sentinel lymph node involvement and the stage, characterized as localized (stage I or II), locoregional (stage III) or distant (stage IV).

Main endpoint

The primary endpoint of the study was the association between the presence of T2DM and melanoma aggressiveness as determined by the Breslow thickness. Secondary endpoints included the association between the presence of T2DM and other validated, objective melanoma aggressiveness factors.

Statistical analysis

The data were expressed using the mean (SD) or the median (interquartile range) for quantitative variables, as appropriate. The qualitative and dichotomic variables were expressed as the absolute value (percentage). Normal distribution of the variables was assessed using the Shapiro–Wilk test. The comparison between the baseline characteristics of the two groups (T2DM vs. non-T2DM) was made using the Student's *t*-test, Mann–Whitney *U*-test or χ^2 -test, depending on the type and distribution of the variables. The Spearman test was

used to assess the correlation between two quantitative variables.

The main endpoint (Breslow thickness) was analysed as a continuous quantitative variable, and on the basis of three different cutoff points (> 1 mm vs. ≤ 1 mm, > 2 mm vs. ≤ 2 mm and > 4 mm vs. ≤ 4 mm), to explore its value in thin, intermediate and thick tumours. Seven multivariate logistic regression models were used to determine the presence of an independent relationship between T2DM and some dichotomy-dependent aggressiveness factors (Breslow thickness > 1 mm, > 2 mm and > 4 mm, presence of ulceration, sentinel lymph node involvement, localized vs. locoregional or distant metastatic melanoma, TMR > 5 per mm²). The potential confounders were those variables that, in the opinion of the researchers, and according to the bivariate analysis (Table 1), could have clinical importance, as reflected in the existing literature [age, sex, obesity, alcohol intake (in g per day) and smoking habit (in pack-years)]. To analyse the Breslow thickness as a dependent quantitative variable (after logarithmic transformation, as the data were not normally distributed), we performed a multiple linear regression analysis using the same confounders. A two-tailed $P < 0.05$ was considered significant in all the analyses, which were conducted using SPSS 20.0 (IBM, Armonk, NY, USA).

Results

Baseline characteristics

The mean (SD) age of the studied population was 55.98 (15.3) years, 50.6% were male, and the mean (SD) Breslow thickness was 1.6 mm (2.4). Overall, 48 participants (10.8%) were diagnosed with T2DM (79%, 29% and 54% received metformin, insulin and other oral antidiabetic treatments, respectively); 13%, 23% and 25% of the patients with T2DM had melanoma with a Breslow thickness of > 1 –2 mm, > 2 –4 mm and > 4 mm, respectively (Table 1).

Comparison between the type 2 diabetes mellitus group and the nondiabetic group

Table 1 shows that those patients diagnosed with T2DM were significantly older and more obese, and they reported higher cigarette and alcohol consumption. The presence of T2DM was associated with an increased number of melanoma aggressiveness factors, except for ulceration. Furthermore, the participants with T2DM exhibited higher levels of systemic inflammation markers (fibrinogen, US-CRP and ESR), in addition to higher HbA1c levels, than patients with melanoma who did not have diabetes.

Relationship between type 2 diabetes mellitus and Breslow thickness

When Breslow thickness was used as a quantitative variable (after logarithmic transformation) in a multivariate linear

Table 1 Characteristics of the patients and cutaneous melanoma

Parameters	Total	T2DM	Non-T2DM	P-values
Patients, n (%)	443 (100)	48 (10.8)	395 (89.2)	–
Smokers, n (%)				
Current	82 (18.6)	8 (16.7)	74 (18.7)	
Past	138 (31.3)	24 (50)	114 (28.9)	
Never	221 (50.1)	15 (31.6)	206 (52.2)	
Pack-years, median (IQR) (if > 0 pack-years)	17 (8–30)	27.5 (14.3–46.3)	15 (7.5–24.8)	0.001
Alcohol, g per day (if > 0 g per day)	15 (10–30)	17 (16–44.1)	13.5 (8.2–21.6)	0.170
Previous cancer, n (%)	34 (7.7)	6 (13)	28 (7.1)	0.077
Previous chronic respiratory/heart disease, n (%)	33 (7.4)	9 (19)	24 (6.1)	0.005
Male sex, n (%)	224 (50.6)	33.3%	66.6%	0.018
Age, years	55.98 (15.3)	66.7 (11.6)	54.7 (15.2)	< 0.001
BMI, kg m ⁻²	27.3 (4.5)	30.1 (5.9)	26.9 (4.2)	< 0.001
BMI ≥ 30, n (%)	104 (23.5)	19 (40)	85 (21.5)	0.006
Glycated haemoglobin	5.9 (0.7)	6.8 (1.1)	5.6 (0.5)	< 0.001
US-CRP (UI mL ⁻¹)	2.2 (5.6)	6.1 (14.4)	1.8 (3)	< 0.001
Fibrinogen (mg dL ⁻¹)	359 (92)	389 (89)	355 (92)	0.025
ESR (mm per h)	14.4 (15.7)	21.3 (22.9)	13.5 (14.3)	0.002
Breslow thickness (mm)	1.6 (2.4)	3.3 (4.9)	1.4 (1.8)	< 0.001
≤ 1 mm	248 (56.0)	19 (40)	229 (58)	
> 1–2 mm	96 (21.7)	6 (13)	90 (22.8)	
> 2–4 mm	63 (14.2)	11 (23)	52 (13.2)	
> 4 mm	36 (8.1)	12 (25)	24 (6.1)	
Ulceration, n (%)	72 (16.3)	21.0%	16.0	0.360
Tumour mitotic rate (mitosis per mm ²), n (%)				
> 5 per mm ²	63 (14.2)	9 (1)	38 (9.6)	0.230
Subtype, n (%)				0.007
Superficial spreading melanoma	312 (70.4)	24 (50)	288 (72.9)	
Nodular melanoma	66 (14.9)	13 (27)	53 (13.4)	
Lentigo maligna melanoma	34 (7.7)	7 (15)	27 (6.8)	
Acral lentiginous melanoma	23 (5.3)	2 (4)	21 (5.3)	
Other	8 (1.8%)	2 (4)	6 (1.5)	
Sentinel lymph node involvement, n (%)				0.010
Not performed	206 (46.5%)	24 (50%)	182 (46.1)	
Affected	47 (10.6)	8 (24%)	39 (6)	
Not affected	190 (42.9%)	16 (33%)	174 (44.1)	
Anatomical site, n (%)				0.053
Head and neck	64 (14.4)	11 (23)	53 (13.4)	
Trunk	179 (40.4)	7 (15)	60 (15.2)	
Upper limb	67 (15.1)	7 (15)	106 (26.8)	
Lower limb	113 (25.5)	21 (44)	157 (39.7)	
Acral	20 (4.5)	2 (4)	18 (4.6)	
Stage, n (%)				0.004
Localized (I–II)	393 (88.7)	36 (75)	357 (90.4)	
Locoregional (III)	46 (10.4)	10 (21)	36 (9.1)	
Distant (IV)	4 (0.9)	2 (4)	2 (0.5)	

T2DM, type 2 diabetes mellitus; BMI, body mass index; US-CRP, ultrasensitive C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate. Values are expressed as mean (SD) except for smoking and alcohol habits, which followed a non-normal distribution and were expressed as median (interquartile range) when continuous, or absolute value (percentage) when categorical. Groups were compared using Student's t-test, Mann–Whitney U-test or χ^2 -test, as appropriate. There were two missing values for smokers and 12 missing values for the tumour mitotic rate.

regression analysis, we found that there was a significant relationship with the presence of T2DM (beta coefficient 1.73, 95% CI 1.01–2.45; $P = 0.001$) and age (beta coefficient 0.15, 95% CI 0.007–0.32; $P = 0.003$), independently of sex, BMI, alcohol intake and smoking habit.

When the patients were divided into two groups, using 1 mm Breslow thickness as a cutoff point (OR 1.7, 95%

CI 0.9–3.2; $P = 0.10$), no significant association with T2DM was found. In contrast, when a Breslow thickness > 2 mm was used as an indicator of more aggressive melanoma, a significant association with T2DM emerged (OR 2.6, 95% CI 1.4–4.9; $P = 0.004$); this was also true for a Breslow thickness > 4 mm (OR 3.6, 95% CI 1.7–7.9; $P = 0.001$) after adjusting for age, sex, obesity, alcohol intake and smoking habit.

Table 2 Factors independently associated with melanoma aggressiveness markers in seven independent regression logistic models. Fully adjusted models for type 2 diabetes mellitus (T2DM), age and metformin treatment are shown in all models

Logistic regression models	Melanoma aggressiveness markers (dependent variable)	Variables (independent variables)	OR (95% CI)	P-values
Model 1	Breslow thickness > 1 vs. ≤ 1 mm	T2DM	1.7 (0.9–3.2)	0.100
		Age	1.03 (1.01–1.04)	0.001
		Metformin treatment	0.9 (0.7–3.6)	0.341
Model 2	Breslow thickness > 2 vs. ≤ 2 mm	T2DM	2.6 (1.4–4.9)	0.004
		Age	1.04 (1.02–1.05)	0.001
		Metformin treatment	0.8 (0.7–3.5)	0.551
Model 3	Breslow thickness > 4 vs. ≤ 4 mm	T2DM	3.6 (1.7–7.9)	0.001
		Age	1.04 (1.01–1.07)	0.002
		Metformin treatment	1.0 (0.8–5.7)	0.672
Model 4	Sentinel lymph node involvement	T2DM	2.3 (1.0–5.7)	0.038
		Age	0.98 (0.96–1.00)	0.106
		Metformin treatment	1.0 (0.8–4.4)	0.591
Model 5	Presence of ulceration	T2DM	1.0 (0.5–2.2)	0.932
		Age	1.03 (1.01–1.05)	0.001
		Metformin treatment	0.9 (0.6–3.3)	0.411
Model 6	Locoregional/distant vs. localized melanoma	T2DM	3.4 (1.6–7.4)	0.002
		Age	0.99 (0.97–1.01)	0.404
		Metformin treatment	0.8 (0.6–4.7)	0.761
Model 7	Tumour mitotic rate > 5 per mm ²	T2DM	4.5 (1.4–13.7)	0.009
		Age	1.02 (0.9–1.05)	0.407
		Metformin treatment	0.9 (0.6–3.9)	0.490

OR, odds ratio; CI, confidence interval. Adjusted for sex, body mass index, alcohol intake and smoking habit.

However, there was no significant association between metformin treatment and Breslow thickness after adjustment for the same variables (Table 2).

Figure 1 illustrates the incremental proportion of patients with T2DM in line with increasing Breslow thickness (in contrast to the decrease seen in patients who did not have T2DM), according to the cutoff values proposed in the staging guidelines of the American Joint Committee on Cancer.²³

There was no significant correlation between the levels of HbA1c and Breslow thickness in patients with T2DM ($r = 0.12$, $P = 0.36$) or patients who did not have diabetes ($r = 0.11$; $P = 0.44$).

Relationship between type 2 diabetes mellitus and other markers of cutaneous melanoma aggressiveness

T2DM was also independently associated with TMR > 5 per mm² (OR 4.5, 95% CI 1.4–13.7; $P = 0.009$), sentinel lymph node involvement (OR 2.3, 95% CI 1.0–5.7; $P = 0.038$) and tumour stage (locoregional or distant metastasis vs. localized disease) (OR 3.4, 95% CI 1.6–7.4; $P = 0.002$), after adjusting for age, sex, obesity, alcohol intake and smoking habit (Table 2). However, the presence of ulceration was related only to the age of the patient, and not to the presence of T2DM.

No significant associations emerged between HbA1c levels and metformin treatment with respect to any of the markers of aggressiveness.

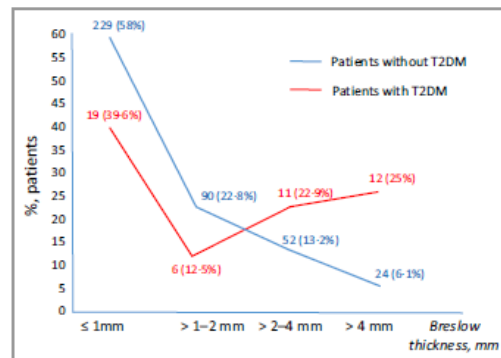


Figure 1 Absolute numbers and percentages of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and those without T2DM in terms of Breslow thickness intervals, according to the 8th edition of the American Joint Committee on Cancer Staging Classification System.

Discussion

This multicentric study of a large series of prospectively recruited and well-characterized patients with cutaneous melanoma shows for the first time that the presence of underlying T2DM, rather than glycaemic control or metformin treatment, is associated with markers of increased tumour aggressiveness (Breslow thickness, involvement of sentinel lymph node, TMR

and tumour stage). These relationships were independent of age, sex, smoking habits, alcohol consumption and obesity.

The association between T2DM and a greater incidence of cancer has been observed in several studies and has been specifically corroborated for several types of tumours,^{8–12} but the relationship of T2DM with cutaneous melanoma remains controversial. A recent meta-analysis of nine cohort studies concluded that T2DM might be an independent risk factor for malignant melanoma, even when the results were adjusted for age and obesity. However, the authors found considerable methodological differences between the studies, such as the sourcing of patients (some from hospital cohorts and others from the general population) and a lack of adjustments for several important confounders such as alcohol consumption and smoking. These discrepancies precluded any more definitive conclusions.¹³

Our current study differs from the aforementioned epidemiological studies in that we explored the relationship between, on the one hand, T2DM, levels of glycaemic control predicated on HbA1c concentrations and metformin treatment and, on the other, melanoma aggressiveness at diagnosis. Accordingly, our findings add new and important information, as we identified an independent association between the presence of T2DM, along with advanced age, and several well-established objective measures of tumour aggressiveness in patients with cutaneous melanoma. However, we found no evidence to support a relationship between glycaemic control or metformin use and melanoma aggressiveness.

The pathophysiological mechanisms underlying the relationship between the presence of T2DM and markers of greater aggressiveness of cutaneous melanoma have yet to be studied. One plausible hypothesis is that insulin resistance and secondary chronic hyperinsulinaemia may stimulate faster tumour growth and metastases by increasing the bioavailable insulin-like growth factor 1 (IGF)-1 concentrations.²⁴ This growth factor has previously been proposed as a possible contributor to the increased incidence of melanoma in patients with T2DM through its enhancement of cellular proliferation and its activation of oncogenic epidermal growth factor receptors, thereby promoting mitogenic and antiapoptotic effects and inducing malignant cell transformation, in addition to faster tumour growth and metastases.²⁵ However, some authors have failed to find any significant relationship between IGF-1 concentrations and cutaneous melanoma incidence.²⁶ The long-term effects of hyperinsulinaemia and hyperglycaemia have been advanced as another possible mechanism of cancer development and aggressiveness in patients with cutaneous melanoma, as they may increase the production of reactive oxygen species and decrease the expression of antioxidants, leading to DNA damage and promoting the faster proliferation of cancer cells.²⁷ Similarly, the presence of T2DM is associated with higher circulating leptin levels, which have been implicated in a variety of mechanisms contributing to oncogenesis, including malignant transformation, angiogenesis, inflammation and immune dysfunction.^{28–30} Moreover, cutaneous melanoma cells express leptin receptors, and therefore

hyperleptinaemia could also have influenced our findings.^{31,32} We also observed a clear relationship between T2DM and increases in systemic inflammatory markers, as illustrated by the serum levels of US-CRP, fibrinogen and ESR. It is now well established that chronic systemic inflammation is a driver of increased aggressiveness in malignant tumours.³³ Finally, the possibility of altered microvascular function in T2DM^{31,32} could promote the occurrence of tumour hypoxaemia, particularly in fast-growing malignancies such as cutaneous melanoma, and this could be an additional factor contributing to the aggressiveness of tumours in patients with T2DM.^{33–39}

In contrast, the effectiveness of glycaemic control was not associated with any markers of aggressiveness. One plausible explanation could be that HbA1c pertained only to glycaemic control in the preceding 2–3 months, so no information was available on longer-term glycaemic control and, therefore, its potential contribution to melanoma aggressiveness. Furthermore, we did not find any significant association between metformin treatment, one of the most widely used antidiabetic drugs, and markers of melanoma aggressiveness. Metformin has been invoked as exhibiting anticancer properties, probably mediated through activation of the AMP-activated protein kinase pathway, and downstream reductions in insulin, IGF-1 and leptin, in addition to attenuation of inflammatory pathways, with a concurrent potentiation of adiponectin – all of which may play a role in tumorigenesis.⁴⁰ As most of the participants with T2DM in our cohort were receiving metformin (almost 80%), it is possible that differences between T2DM in those patients who received metformin and those who did not may not have been apparent owing to a lack of statistical power. Another possibility could be that metformin is primarily implicated in oncogenesis-related pathways rather than being a modulator of tumour aggressiveness.

Our study has some limitations that should be mentioned. Firstly, we could not obtain information on some potential confounders, such as diet and physical activity, that have been shown to modify the phenotypic expression of T2DM and also operate as modifiable factors in the biology of cancer in general, and melanoma in particular.⁴¹ We should point out that these factors have been examined only in the context of the relationship between T2DM and a greater incidence of melanoma (and other tumours), and their role has not been explored in the context of tumour aggressiveness. As the number of patients with T2DM was relatively low (10.8%), some of the 95% CIs were broad, although they were statistically significant in all cases. We also lacked data on the starting date, duration and dosage of the metformin treatment, and we were therefore unable to assess the impact of these variables on our analyses. Finally, the cohort was hospital-based and may be biased toward a lower proportion of thin melanomas. Therefore, we cannot be certain of the generalizability of the results.

In conclusion, the presence of T2DM is associated with more aggressive cutaneous melanoma at diagnosis. However, neither glycaemic control measured by glycated haemoglobin nor the use of metformin appear to be associated with the

aggressiveness of the tumour. Future longitudinal studies are needed to expand on our results and better define the main pathophysiological pathways underlying the relationship between metabolic changes in T2DM and increased cutaneous melanoma aggressiveness.

References

- Gracia-Cazaña T, González S, Parrado C *et al.* Influence of the exposure on skin cancer. *Actas Dermosifiliogr* 2020; **111**:460–70.
- Lennon H, Badrick E, Sperrin M, Renehan AG. Body-mass index and metastatic melanoma outcomes. *Lancet Oncol* 2018; **19**:e225.
- Sergentanis TN, Antoniadis AG, Gogas HJ *et al.* Obesity and risk of malignant melanoma: a meta-analysis of cohort and case-control studies. *Eur J Cancer* 2013; **49**:642–57.
- Gandini S, Masala G, Palli D *et al.* Alcohol, alcoholic beverages, and melanoma risk: a systematic literature review and dose-response meta-analysis. *Eur J Nutr* 2018; **57**:2323–32.
- Nagore E, Hueso L, Botella-Estrada R *et al.* Smoking, sun exposure, number of nevi and previous neoplasias are risk factors for melanoma in older patients (60 years and over). *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2010; **24**:50–7.
- Mathews NH, Li WG, Qureshi AA, Weinstock MA, Cho E. Epidemiology of melanoma. In: *Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy* (Ward WH, Farna JM, eds), Brisbane, QLD: Codon Publications, 2017; 3–22.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; **27**:1047–53.
- Yuan S, Kar S, Carter P *et al.* Is type 2 diabetes causally associated with cancer risk? Evidence from a two-sample mendelian randomization study. *Diabetes* 2020; **69**:1588–96.
- Linkeviciute-Ulinskiene D, Patasius A, Zabulienė L *et al.* Increased risk of site-specific cancer in people with type 2 diabetes: a national cohort study. *Int J Environ Res Public Health* 2019; **17**:246.
- Wierzbicka W, Śliwczynski A, Karnaś W *et al.* Comparison of the incidence of new malignancies in diabetic patients in urban and rural populations in Poland in the years 2008–2014 based on the database of the National Health Fund. *Arch Med Sci* 2019; **15**:330–6.
- Saarela K, Tuomilehto J, Sund R *et al.* Cancer incidence among Finnish people with type 2 diabetes during 1989–2014. *Eur J Epidemiol* 2019; **34**:259–65.
- Williams R, van Staa TP, Gallagher AM *et al.* Cancer recording in patients with and without type 2 diabetes in the Clinical Practice Research Datalink primary care data and linked hospital admission data: a cohort study. *BMJ Open* 2018; **8**:e020827.
- Qi L, Qi X, Xiong H *et al.* Type 2 diabetes mellitus and risk of malignant melanoma: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Iran J Public Health* 2014; **43**:857–66.
- Scoppola A, Strigari L, Barnabei A *et al.* Insulin resistance as a risk factor for cutaneous melanoma. A case control study and risk-assessment nomograms. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; **10**:757.
- Wojciechowska J, Krajewski W, Bolanowski M *et al.* Diabetes and cancer: a review of current knowledge. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2016; **124**:263–75.
- Sergentanis TN, Antoniadis AG, Gogas HJ *et al.* Obesity and risk of malignant melanoma: a meta-analysis of cohort and case-control studies. *Eur J Cancer* 2013; **49**:642–57.
- Tseng CH. Metformin is associated with decreased skin cancer risk in Taiwanese patients with type 2 diabetes. *J Am Acad Dermatol* 2018; **78**:694–700.
- Vigneri R, Sciacca L, Vigneri P. Rethinking the relationship between insulin and cancer. *Trends Endocrinol Metab* 2020; **31**:551–60.
- Gogas H, Trakatelli M, Dessypris N *et al.* Melanoma risk in association with serum leptin levels and lifestyle parameters: a case-control study. *Ann Oncol* 2008; **19**:384–9.
- Oba J, Wei W, Gershenwald JE *et al.* Elevated serum leptin levels are associated with an increased risk of sentinel lymph node metastasis in cutaneous melanoma. *Medicine (Baltimore)* 2016; **95**:e073.
- Martinez-Garcia MA, Campos-Rodriguez F, Nagore E *et al.* Sleep-disordered breathing is independently associated with increased aggressiveness of cutaneous melanoma: a multicenter observational study in 443 patients. *Chest* 2018; **154**:1348–58.
- World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. Available at: https://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2006/en/ (last accessed 1 February 2021).
- Linkeviciute-Ulinskiene D, Patasius A, Zabulienė L *et al.* Increased risk of site-specific cancer in people with type 2 diabetes: a national cohort study. *Int J Environ Res Public Health* 2019; **17**:246.
- Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR *et al.* Melanoma staging: evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin* 2017; **67**:472–92.
- Adams TE, McKern NM, Ward CW. Signalling by the type 1 insulin-like growth factor receptor: interplay with the epidermal growth factor receptor. *Growth Factors* 2004; **22**:89–95.
- Renehan AG, Zwahlen M, Minder C *et al.* Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Lancet* 2004; **363**:1346–53.
- Bradbury KE, Appleby PN, Tipper SJ *et al.* Circulating insulin-like growth factor I in relation to melanoma risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Int J Cancer* 2019; **144**:957–66.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; **414**:813–20.
- McMurphy T, Xiao R, Magee D *et al.* The anti-tumour activity of a neutralizing nanobody targeting leptin receptor in a mouse model of melanoma. *PLoS ONE* 2014; **9**:e89895.
- Brandon EL, Gu JW, Cantwell L *et al.* Obesity promotes melanoma tumour growth: role of leptin. *Cancer Biol Ther* 2009; **8**:1871–9.
- Malvi P, Chaube B, Pandey V *et al.* Obesity induced rapid melanoma progression is reversed by orlistat treatment and dietary intervention: role of adipokines. *Mol Oncol* 2015; **9**:689–703.
- Amjadi F, Javanmard SH, Zarkesh-Bafahani H *et al.* Leptin promotes melanoma tumour growth in mice related to increasing circulating endothelial progenitor cells numbers and plasma NO production. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; **30**:21.
- Ellerhorst JA, Diwan AH, Dang SM *et al.* Promotion of melanoma growth by the metabolic hormone leptin. *Oncol Rep* 2010; **23**:901–7.
- Dolan RD, Mc Millan DC. The prevalence of cancer associated systemic inflammation: Implications of prognostic studies using the Glasgow Prognostic Score. *Crit Rev Onc Hematol* 2020; **150**:102962.
- Gamrat A, Surdacki MA, Chyrchel B, Surdacki A. Endothelial dysfunction: a contributor to adverse cardiovascular remodeling and heart failure development in type 2 diabetes beyond accelerated atherogenesis. *J Clin Med* 2020; **9**:2090.
- Takeda Y, Matoba K, Sekiguchi K *et al.* Endothelial dysfunction in diabetes. *Biomedicine* 2020; **8**:182.
- Ahmed F, Haass NK. Microenvironment-driven dynamic heterogeneity and phenotypic plasticity as a mechanism of melanoma therapy resistance. *Front Oncol* 2018; **8**:173.

- 38 Giampietri C, Petru ngaro S, Conti S *et al.* Cancer microenvironment and endoplasmic reticulum stress response. *Mediators Inflamm* 2015; **2015**:417281.
- 39 Meierjohann S. Hypoxia-independent drivers of melanoma angiogenesis. *Front Oncol* 2015; **5**:102.
- 40 Zbytek B, Peacock DL, Seagroves TN, Slominski A. Putative role of HIF transcriptional activity in melanocytes and melanoma biology. *Dermatoendocrinol* 2013; **5**:239–51.
- 41 Jaune E, Rocchi S. Metformin: focus in melanoma. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; **9**:472.



Sleep apnoea, intermittent hypoxia and cutaneous melanoma incidence and aggressiveness. More than a coincidence?

Keywords:

Cutaneous melanoma
Incidence
Aggressiveness
Continuous positive airway pressure
CPAP

Obstructive sleep apnoea (OSA) is a highly prevalent disease (affecting more than one billion people worldwide) [1] that involves periodic interruptions of the upper airway lasting more than 10 s. These total (apnoea) or partial (hypopnoea) interruptions can occur hundreds of times during the night and cause the intermittent hypoxia (IH) that characterize the disease (IH) [2]. IH caused by OSA has been related to several diseases, such as cardiovascular risk factors [3–7], arterial hypertension [8–10], cardiovascular events [11–13], metabolic disorders [14,15] and neurocognitive deficits [16]. In recent years, however, many studies have shown that some sleep disorders [17], especially those associated with IH, are also capable of producing, through various mechanisms, a higher incidence and aggressiveness of cancer and even a poorer response to treatment [18]. This relationship has been shown to be more complex than expected, however, given that not all types of cancer present a similar risk and, even within the same location, different cell lines respond differently to IH [19], as has been demonstrated in a different degree of cell profiling in lung adenocarcinoma [20].

IH-induced OSA is capable of activating various pathophysiological pathways related to a higher risk of cancer: activation of reactive oxygen species (known carcinogen), activation of different oncogenes, monocyte/macrophage polarization and over-expression of many pro-inflammatory markers and biomarkers related to cancer. However, it seems that the fundamental pathway used by IH is the activation of hypoxic inducible factor (HIF)-1 α , which in turn triggers the over-production of molecules such as vascular endothelial growth factor (VEGF) in hypoxic areas (e.g., inside tumours), with the consequent formation of new vessels in these areas. This circumstance, which can be beneficial in a situation of myocardial ischaemia, is actually reversed in cases of tumours, since their neovascularization is associated with a greater probability of distant metastasis or growth of the tumour itself, depending on the sensitivity of the tumour cells (probably determined by the density of active VEGF or other receptors of tumour factors) [21,22].

Of the different types of tumour studied from a clinical viewpoint with respect to the relationship between IH induced by OSA and cancer, one of the most thoroughly investigated has undoubtedly been cutaneous melanoma [23]. This close examination has several explanations: 1. It is a tumour with a significant prevalence, especially in sunny climates [24]; 2. It presents significant aggressiveness; 3. Its local growth is easily measurable; 4. Various studies in murine models have indicated that the induction of IH in murine models produces an accelerated proliferation of melanoma cells with respect to the situation of normoxia [25]; 5. It is biologically plausible that cutaneous melanoma cells are sensitive to the action of IH. For example, it has been observed in cutaneous melanoma patients that IH induces the over-expression of PD-L1, which plays a major role in suppressing the adaptive arm of immune systems during cancer [26], as well as inducing the over-expression of the paraspeckle component (PSPC)-1 [27], a master modulator of transforming growth factor (TGF)- β signalling which promotes cell cancer progression through epithelial-mesenchymal transition (EMT). IH also promotes the pro-angiogenic factor midkine, which appears to enhance both the lymphangiogenesis and intrinsic aggressiveness of melanoma tumour cells [28], and, finally, it raises the circulating levels of soluble VCAM-1, which could indicate that it contributes to tumorigenesis via integrin-based adhesion [29].

However, other authors have pointed out some protective biomarkers (and, therefore, future possible targets for developing treatments against the carcinogenic action of IH). For example, Qi et al. concluded that Follistatin-like 1 (Fstl1) may protect against lung metastasis through oxidative stress and inflammatory responses related to IH associated with OSA [30].

All these assumptions concur with the clinical studies, which have practically all presented similar results (albeit with some limitations): the prevalence of OSA in patients with melanoma is abnormally high, and in patients with OSA the incidence of melanoma is also excessive compared to that of other types of tumours in both clinical and epidemiological series [23]. As regards other tumour types, however, studies have presented mixed results. Thus, a recent meta-analysis (which included five studies) of more than 5 million individuals concluded, after adjusting for confounding variables, that the incidence of melanoma in patients with OSA was 1.88 (95% CI: 1.32 to 2.67) with respect to those without OSA [31].

Remarkably, the only prospective study on the association between melanoma aggressiveness and OSA severity (which included 443 patients with melanoma and a measurable Breslow Index) concluded that the severity of OSA was independently associated with greater aggressiveness of cutaneous melanoma (especially in

tumours with a Breslow Index higher than 2 mm), particularly among younger patients, even after adjusting for age, sex, body mass index and tumour site [32].

Despite these common findings from various studies of a relationship between the presence of OSA and IH, many questions remain to be resolved. It is important to bear in mind that not all cutaneous melanomas have a similar malignant cell line composition and that they may respond differently to IH. Khalifa et al., for example, found a significant heterogeneity of melanoma cell responses to OSA-derived plasma exosomes and IH. The exosomal cargo from CRL-1424 cells showed a unique miRNA signature compared to CRL-1675 cells after exposure to IH, suggesting that the susceptibility of melanoma cells to IH can vary, even though they have similar effects on immune cell polarity. It has been postulated that mutations in STK-11 gene encoding for the serine/threonine kinase family that acts as a tumour suppressor may underlie susceptibility to IH-induced metabolic dysfunction, as illustrated by CRL-1424 cells [33].

Furthermore, it is important to know the role of confounding factors, especially age and obesity, which are both found in a very high percentage of patients with OSA and have also proved to be associated intrinsic risk factors for a higher incidence of melanoma [34]. Similarly, exclusive longitudinal studies of patients with melanoma are also needed to provide information on the prognosis (deaths, relapses, distant metastases, etc.) of patients with OSA. Finally, it is important to know not only the effect of continuous positive airway pressure (CPAP) on the main outcomes of melanoma, but also its interaction with the other treatments that have now proliferated for patients with melanoma, even in its metastatic phase.

Be that as it may, the studies undertaken to date seem to indicate that a high percentage of patients with melanoma present OSA and that the IH generated by this disease seems to be associated with a higher incidence and aggressiveness of the tumour. These findings open up an exciting field of therapeutic investigation that could lead towards the confirmation of IH as a new treatable trait in cutaneous melanoma, with implications for its diagnosis and greater personalization of its management.

Declaration of competing interest

Authors declare none.

References

- Benjafield AV, Ayas NT, Eastwood PR, Heinzer R, Ip MSM, Morrell MJ, Nunez CM, Patel SR, Penzel T, Pépin J-L, et al. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: a literature-based analysis. *Lancet Respir Med* 2019;7:687–98.
- Mediano O, González Mangado N, Montserrat JM, Alonso-Álvarez ML, Almendros I, Alonso-Fernández A, Barbé F, Borsini E, Caballero-Eraso C, Cano-Pumarega I. International consensus document on obstructive sleep apnoea. *Arch Bronconeumol* 2022 Jan;58(1):52–68.
- Sapiña-Beltrán E, Gracia-Lavedan E, Torres G, Gaeta AM, Paredes J, Mayoral A, Fernández E, Bermúdez-López M, Valdivielso JM, Farrás-Salles C, Pamplona R, Lecube A, de Batlle J, Barbé F, Dalmases M, ILERVAS group. Prevalence of obstructive sleep apnoea and its association with atherosclerotic plaques in a cohort of subjects with mild-moderate cardiovascular risk. *Arch Bronconeumol* 2022 Jun;58(6):490–7.
- Javaheri S, Barbé F, Campos-Rodríguez F, et al. Sleep apnea: types, mechanisms, and clinical cardiovascular consequences. *J Am Coll Cardiol* 2017;69:841–58.
- Velásquez-Rodríguez J, Ortiz-Maraína T, Rodríguez-Viñoles MP, Bucce R, Jorquera A, Rodríguez B. Serum leptin and ultrasound markers of early atherosclerosis in patients with sleep apnea hypopnea syndrome. *Arch Bronconeumol* 2021 Mar;57(3):230–1.
- Sánchez-de-la-Torre M, Campos-Rodríguez F, Barbé F. Obstructive sleep apnoea and cardiovascular disease. *Lancet Respir Med* 2013;1:61–72.
- Fernández-Bello I, Monzón Manzano E, García Río F, Justo Sanz R, Cubillos-Zapata C, Castas R, Sánchez B, Jaureguizar A, Acuña P, Alonso-Fernández A, Álvarez Román MT, Jiménez Yuste V, Butta NV. Procoagulant state of sleep apnea depends on systemic inflammation and endothelial damage. *Arch Bronconeumol* 2022 Feb;58(2):117–24.
- Grassi G, Quarti-Trevano F, Mancini G. Obstructive sleep apnea, CPAP and arterial hypertension: a cardiologist's view point. *Arch Bronconeumol* 2022 Jun;58(6):461–2.
- Pengo MF, Soranna D, Giontella A, Perger E, Mattaliano P, Schwarz EI, Lombardi C, Bilo G, Zambon A, Steier J, Parati G, Minuz P, Fava C. Obstructive sleep apnoea treatment and blood pressure: which phenotypes predict a response? A systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 2020 May 7;55(5):1901945.
- Pengo MF, Steier J, Parati G, ANDANTE collaborators; researchers collaborating in the andante project. The andante project: a worldwide individual data meta-analysis of the effect of sleep apnea treatment on blood pressure. *Arch Bronconeumol* 2021 Nov;57(11):673–6.
- Navarro-Soriano C, Martínez-García MA, Torres G, Barbé F, Sánchez-de-la-Torre M, Caballero-Eraso C, Lloberes P, Cambriles TD, Somoza M, Masa JF, González M, Mañás E, de la Peña M, García-Río F, Montserrat JM, Muriel A, Oscullo G, García-Ortega A, Posadas T, Campos-Rodríguez F. On behalf of the Spanish sleep network. Long-Term effect of CPAP treatment on cardiovascular events in patients with resistant hypertension and sleep apnea. Data from the HIPARCO-2 study. *Arch Bronconeumol* 2021 Mar;57(3):165–71.
- Yeghiazarians Y, Jneid H, Tietjens JR, Redline S, Brown DL, El-Sharif N, Mehra R, Bozkurt B, Ndumele CE, Somers VK. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease: a scientific statement from the American heart association. *Circulation* 2021 Jul 20;144(3):e56–67.
- Grau N, Martí-Almor J, Féliz MA. Relationship between obstructive sleep apnea and cardiac arrhythmias. *Arch Bronconeumol* 2021 Aug;57(8):513–4.
- Labarca G, Reyes T, Jorquera J, Dreyse J, Drake L. CPAP in patients with OSA and type-2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *Clin Res J* 2018;12:2316–8.
- Alonso-Fernández A, Cerdá Moncadas M, Álvarez Ruiz De Larrinaga A, Sánchez Barón A, Codina Marcet M, Rodríguez Rodríguez P, Gil Gómez AV, Giménez Carrero MP, Pla Martínez C, Cubero Marín JP, de la Peña M, Barceló A, Morrell-García D, Pierola J, Peña Zarza JA, Durán Cantolla J, Marín Trigo JM, Soriano JB, García-Río F. Impact of obstructive sleep apnea on gestational diabetes mellitus. *Arch Bronconeumol* 2022 Mar;58(3):219–27.
- Zhou J, Camacho M, Tang X, Kushida CA. A review of neurocognitive function and obstructive sleep apnea with or without daytime sleepiness. *Sleep Med* 2016;23:99–108.
- Gómez Olivas JD, Campos-Rodríguez F, Nagore E, Hernández L, Cabrida V, Abad J, Mediano O, Pastor E, Chiner E, de la Torre MS, Cano I, Somoza M, García-Ortega A, Oscullo G, Martínez-García MA. Sleep duration and cutaneous melanoma aggressiveness. A prospective observational study in 443 patients. *Arch Bronconeumol* 2021 Dec;57(12):776–8.
- Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, Barbé F. Cancer and OSA: current evidence from human studies. *Chest* 2016;150:451–63.
- Gozal D, Ham SA, Mokhles B. Sleep apnea and cancer: analysis of a nationwide population sample. *Sleep* 2016;39:1493–500.
- Marhuenda E, Campillo N, Gabasa M, Martínez-García MA, Campos F, Gozal D, Navajas D, Alcaráz J, Farré R, Almendros I. Effects of sustained and intermittent hypoxia on human lung cancer cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2019 Oct;61(4):540–4. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2018-0412LE>.
- Sánchez-de-la-Torre M, Cubillos C, Veatch OJ, García-Río F, Gozal D, Martínez-García MA. Potential pathophysiological pathways in the complex relationships between OSA and cancer. *Cancers* 2023;15:1061. <https://doi.org/10.3390/cancers15041061>.
- García-Río F, Alcázar-Navarrete B, Castillo-Villegas D, Cilloniz C, García-Ortega A, Leiro-Fernández V, Lojo-Rodríguez I, Padilla-Galo A, Quezada-Loaiza CA, Rodríguez-Portal JA, Sánchez-de-la-Torre M, Sibila O, Martínez-García MA. Biological biomarkers in respiratory diseases. *Arch Bronconeumol* 2022 Apr;58(4):323–33.
- Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, Almendros I, García-Río F, Sánchez-de-la-Torre M, Farré R, et al. Cancer and sleep apnea: cutaneous melanoma as a case study. *Am J Respir Crit Care Med* 2019;200:1345–53.
- Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of melanoma. *Med Sci* 2021;9:63. <https://doi.org/10.3390/medsci9040063>.
- Almendros I, Montserrat JM, Torres M, Dalmases M, Cabañas ML, Campos-Rodríguez F, et al. Intermittent hypoxia increases melanoma metastasis to the lung in a mouse model of sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol* 2013 May 1;186(3):303–7.
- Cubillos-Zapata C, Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, Sánchez de la Torre M, Nagore E, Martorell-Calatayud A, et al. Soluble PD-1 is a potential biomarker of cutaneous melanoma aggressiveness and metastasis in obstructive sleep apnoea patients. *Eur Respir J* 2019 Jan 31;53(2):1801298. <https://doi.org/10.1183/13993003.01298-2018>.
- Cubillos C, Martínez-García MA, Díaz E, García S, Campos F, Sánchez de la Torre M, et al. Obstructive sleep apnoea is related to melanoma aggressiveness through paraspeckle protein-1 upregulation. *Eur Respir J* 2023 Feb 2;61(2):2200707. <https://doi.org/10.1183/13993003.00707-2022>.
- Cubillos-Zapata C, Martínez-García MA, Díaz-García E, Toledano V, Campos-Rodríguez F, Sánchez-de-la-Torre M, et al. Proangiogenic factor midkine is increased in melanoma patients with sleep apnea and induces tumor cell proliferation. *Spanish Sleep Network. FASEB J* 2020 Dec;34(12):16179–90.
- Santamaría-Martos F, Benítez I, Giron C, Barbé F, Martínez-García MA,

- Hernández L, et al. Biomarkers of carcinogenesis and tumour growth in patients with cutaneous melanoma and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J* 2018 Mar 15;51(3):1701885.
- [30] Qi C, Gao J, Liu X, Chen Q, Liang M, Chen Z, Feng J, Chen B, Ning W, Li L. Follistatin-like 1 mitigates intermittent hypoxia-induced melanoma lung metastasis in mice. *Sleep Breath* 2022. Sep 17. <https://doi.org/10.1007/s11325-022-02680-5>.
- [31] Tan NKW, Yap DWT, Tan BKY, Teo YH, Tan EKH, Chan JY, et al. The association of obstructive sleep apnea with melanoma incidence and mortality: a meta-analysis of 5,276,451 patients. *Sleep Med* 2021;88:213–20.
- [32] Martínez-García MA, Campos-Rodríguez F, Nagore E, Martorell A, Rodríguez-Peralto JL, Riveiro-Falkenbach E, et al. Sleep-disordered breathing is independently associated with increased aggressiveness of cutaneous melanoma: a multicenter observational study in 443 patients. *Chest* 2018 Dec;154(6):1348–58.
- [33] Khalyfa A, Trzepizur W, Gileles-Hillel A, Qiao Z, Sanz-Rubio D, Marin JM, et al. Heterogeneity of melanoma cell responses to sleep apnea-derived plasma exosomes and to intermittent hypoxia. *Cancers* 2021 Sep 24;13(19):4781. <https://doi.org/10.3390/cancers13194781>.
- [34] Almendros I, Martínez-García MA, Farré R, Gozal D. Obesity, sleep apnea, and cancer. *Int J Obes* 2020 Aug;44(8):1653–67.

Grace Oscullo, Jose Daniel Gomez-Olivas
Servicio de Neumología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe,
Valencia, Spain

Miguel Ángel Martínez-García*
Servicio de Neumología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe,
Valencia, Spain

CIBERES de Enfermedades Respiratorias, ISCIII, Madrid, Spain

* Corresponding author. Pneumology Department, Hospital
Universitario y Politécnico La Fe, Avenida Fernando Abril Martorell
2026, Valencia, Spain.
E-mail address: mianmartinezgarcia@gmail.com (M.Á. Martínez-García).

18 May 2023
Available online 29 May 2023