



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Oncologiche e
Gastroenterologiche

Direttore: Prof. Fabio Farinati

U.O.C. Chirurgia Oncologica dei Tessuti Molli, del Peritoneo e dei
Melanomi

Direttore: Prof. Simone Mocellin

TESI DI LAUREA

**RUOLO DELLA PERFUSIONE ISOLATA DI ARTO
NEL TRATTAMENTO DEL MELANOMA
CLINICAMENTE AVANZATO. TRENTA ANNI DI
ESPERIENZA MONOCENTRICA.**

Relatore: Prof. Marco Rastrelli

Correlatore: Paolo Del Fiore

Laureanda: Claudia Pacilli

Anno Accademico 2022/2023

Sommario

1	Introduzione	5
1.1	Generalità	5
1.2	Epidemiologia	6
1.2.1	Dati globali	6
1.2.2	Differenze geografiche	7
1.2.3	Differenze di etnia	8
1.2.4	Differenze di genere e di sesso biologico.....	9
1.2.5	Differenze di sede.....	11
1.2.6	Mortalità	11
1.2.7	Epidemiologia in Italia	12
1.2.8	Epidemiologia in Veneto	15
1.3	Fattori di rischio	14
1.3.1	Fattori di rischio ambientali.....	14
1.3.2	Fattori di rischio individuali	16
1.3.3	Sindromi genetiche	16
1.3.4	Prevenzione	18
1.4	Classificazione clinica WHO 2018	18
1.4.1	Lentigo maligna melanoma	18
1.4.2	Melanoma a diffusione superficiale	19
1.4.3	Melanoma nodulare	19
1.4.4	Melanoma desmoplastico	20
1.4.5	Melanoma lentiginoso acrale.....	20
1.5	Classificazione molecolare	21
1.6	Diagnosi	22
1.7	Fattori prognostici	23
1.7.1	Istotipo	23
1.7.2	Fase di crescita	23
1.7.3	Spessore di Breslow	23
1.7.4	Livello di Clark.....	24
1.7.5	Ulcerazione.....	24
1.7.6	Indice mitotico.....	24
1.7.7	Linfociti infiltranti il tumore (TIL).....	25
1.7.8	Regressione.....	25
1.7.9	Microsatellitosi ed invasione linfo-vascolare	25
1.7.10	Assetto molecolare.....	26
1.8	Stadiazione AJCC 8° edizione (2018)	26
1.8.1	Parametro T	26
1.8.2	Parametro N.....	27
1.8.3	Parametro M	29
1.8.4	Stadio patologico pTNM	31
1.9	Terapia	32
1.9.1	Terapia chirurgica	32
1.9.2	Radioterapia.....	34
1.9.3	Chemioterapia.....	35
1.9.4	Immunoterapia.....	35
1.9.5	Terapia target	38
1.9.6	Follow-up	40
1.10	Perfusione isolata di arto (ILP)	41

1.10.1	Principi della metodologia	41
1.10.2	Tecnica	44
1.10.3	Patologie bersaglio: melanomi	48
1.10.4	Stato dell'arte	50
1.10.5	Tossicità secondo Wieberdink	52
2	<i>Scopo dello studio</i>	53
3	<i>Materiali e metodi</i>	54
4	<i>Risultati</i>	56
5	<i>Discussione e conclusioni</i>	60
6	<i>Limiti dello studio</i>	64

Indice delle figure:

Figura 1: Incidenza e mortalità del melanoma nel mondo (Globocan, 2020).....	5
Figura 2: Incidenza e mortalità standardizzate per età del melanoma nel mondo (Globocan, 2020)	6
Figura 3: Nuovi casi di cancro stimati in aumento nel periodo 2020-2040 (Globocan, 2020)	7
Figura 4: Nuovi casi di cancro stimati per sito nel 2023 (A Cancer Journal for Clinicians, 2023)	7
Figura 5: Incidenza e mortalità del melanoma nel mondo stratificate per regione (Globocan, 2020)	7
Figura 6: Sopravvivenza a 5 anni stratificata per etnia negli Stati Uniti (A Cancer Journal for Clinicians, 2023).....	8
Figura 7: Distribuzione per stadi alla diagnosi stratificati per etnia (A Cancer Journal for Clinicians, 2023).....	9
Figura 8: Andamento dei tassi di incidenza di alcuni tumori selezionati stratificati per sesso negli Stati Uniti (A Cancer Journal for Clinicians, 2023)	10
Figura 9: Mortalità nel mondo su 100.000 persone/anno (Globocan, 2020)	11
Figura 10: Sopravvivenza a 5 anni stratificata per stadio della malattia alla diagnosi (Medical Science, 2021)	12
Figura 11: Mortalità per regioni del mondo (Globocan, 2020).....	12
Figura 12: Incidenza di nuove diagnosi di tumore nel 2020 rispetto al 2019 per sede e sesso (I numeri del cancro in Italia, AIOM, 2022).....	13
Figura 13: Probabilità di guarire dopo una diagnosi di tumore in Italia (I numeri del cancro in Italia, AIOM, 2022)	13
Figura 14: Tempo per la guarigione dei pazienti dopo una diagnosi di tumore in Italia (I numeri del cancro in Italia, AIOM, 2022).....	14
Figura 15: Effetti della melanina (Frontiers in Oncology, 2022).....	15
Figura 16: Interazione tra melanogenesi, metabolismo del glucosio e pathway HIF-1 dipendenti (Frontiers in Oncology, 2022)	15
Figura 17: Principali pathway coinvolti nella melanogenesi (Melanoma - From Early Detection to Treatment, 2013).....	17

Figura 18: Nomogramma per la previsione dello stato dei linfonodi non-sentinella (Annals of Surgical Oncology, 2017).....	33
Figura 19: Principali categorie di immunoterapia (Cellular & Molecular Immunology, 2020)	36
Figura 20: Indicazioni al trattamento del melanoma a seconda dello stadio (Linee Guida AIOM, 2019)	39
Figura 21: Indicazioni al trattamento del melanoma in stadio IV e stadio III inoperabile a seconda dello stato mutazionale di BRAF (Linee Guida AIOM, 2019)	39
Figura 22: Indicazione al follow-up del melanoma a seconda dello stadio (Linee Guida AIOM, 2019)	40
Figura 23: Rappresentazione schematica circolazione extracorporea in ILP (Musculokeletal Cancer Surgery, 2001).....	45
Figura 24: Rappresentazione schematica di accesso vascolare femorale in ILP dell'arto inferiore (Musculokeletal Cancer Surgery, 2001)	47
Figura 25: Foto di accesso vascolare ascellare in ILP dell'arto superiore	47
Figura 26: OS a 3 anni per i quattro gruppi definiti.....	58
Figura 27: DFS locale a 3 anni per i quattro gruppi definiti	58
Figura 28: DFS a distanza a 3 anni per i quattro gruppi definiti.....	59

Indice delle tabelle

Tabella 1: Parametro T nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018.....	27
Tabella 2: Parametro N nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018.....	29
Tabella 3: Parametro M nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018.....	30
Tabella 4: Stadio patologico pTNM nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018.....	31
Tabella 5: Classificazione delle complicanze chirurgiche secondo Clavien-Dindo	34
Tabella 6: Classificazione tossicità locale correlata ad ILP secondo Wieberdink	52
Tabella 7: Stratificazione pazienti a seconda dell'iter terapeutico	54
Tabella 8: Caratteristiche clinico-patologiche pazienti	56
Tabella 9: Caratteristiche delle ILP effettuate	57
Tabella 10: Caratteristiche delle tossicità locali sviluppate	57
Tabella 11: Caratteristiche della risposta all'ILP	57
Tabella 12: Letteratura in ambito di risposta locale ad ILP	60
Tabella 13: Confronto in termini di risposta locale tra solo ILP e ILP + IT	60
Tabella 14: Letteratura in ambito di tossicità da ILP	61
Tabella 15: Letteratura in ambito di OS in trattamento con ILP	62
Tabella 16: Letteratura in ambito di ITM trattate con ICI	62

Riassunto

Introduzione

La perfusione ipertermico-antiblastica isolata d'arto (ILP) è un approccio chirurgico multimodale che trova indicazione nel trattamento di arti con malattia avanzata, che altrimenti andrebbero amputati. Indicazioni principali alla ILP sono: sarcomi localmente avanzati, melanoma primitivo bulky e metastasi in transito da melanoma. Lo scopo principale di questo studio è quello di analizzare come il ruolo della ILP nel melanoma sia cambiato negli anni in funzione dell'evoluzione delle moderne terapie sistemiche.

Materiali e metodi

Abbiamo analizzato retrospettivamente 220 pazienti consecutivi con diagnosi di melanoma in stadio avanzato (stadi III e IV secondo il Cancer Staging Manual dell'AJCC 2018), trattati con ILP (Melphalan o Melphalan associato a TNF-alfa) presso l'Azienda Ospedaliera di Padova (AOPD) e l'Istituto Oncologico Veneto (IOV), in un periodo di tempo compreso tra il giugno del 1989 ed il settembre del 2021. Sono state valutate la sopravvivenza libera da malattia, sia locale (LDFS) che a distanza (DDFS), e la sopravvivenza specifica per melanoma (MSS); la tossicità locale è stata descritta secondo la scala di Wieberdink e le complicanze chirurgiche secondo la classificazione Clavien-Dindo. La risposta alla terapia locoregionale è stata valutata, durante il follow-up, servendosi dei criteri RECIST 1.1 (Response Evaluation Criteria In Solid Tumor).

Scopo dello studio

Questo studio si propone come scopo primario quello di valutare il ruolo dell'ILP nel trattamento del melanoma localmente avanzato non resecabile, in particolar modo in relazione alle moderne terapie sistemiche.

Risultati

Dei 220 pazienti trattati con ILP, ne sono stati esclusi 23 a causa della carenza di dati al follow-up. La popolazione effettiva di 198 pazienti è stata poi stratificata in funzione delle terapie effettuate in associazione con la perfusione, definendo 4 gruppi principali: ILP, ILP + IT, ILP + CT/TT, ILP + IT + CT/TT.

Al fine di ridurre potenziali bias informativi sono state escluse dalla categoria chemioterapica tutte le terapie con setting palliativo.

I tassi di OR, CR e PR, così come la frequenza con cui si sono verificate tossicità locali, classificate secondo la scala di Wieberdink, risultano compatibili con la letteratura.

L'analisi si è concentrata sulla valutazione di DFS locale, DFS a distanza, OS a 3 anni, calcolati separatamente per i gruppi definiti. DFS locale ed OS risultano aumentate nettamente nel gruppo ILP + IT; per quanto concerne il DFS a distanza non sono emerse differenze statisticamente significative.

Conclusioni

I risultati confermano la sinergia tra ILP ed immunoterapia, intesa sia nella sua forma classica che nella sua forma moderna, in termini di OS e local DFS. I processi che sottendono questa evidenza sono da ricercarsi nella modifica del microambiente tumorale associata al trattamento locoregionale, ulteriori studi risultano necessari.

Abstract

Background

Isolated limb hyperthermic-antiblastic perfusion (ILP) is a multimodal surgical approach that is indicated in the treatment of limbs with advanced disease, that would otherwise be amputated. Major indications for ILP are locally advanced sarcomas, bulky primary melanoma, and in-transit metastases from melanoma. The main purpose of this study is to analyze how the role of ILP in melanoma has changed over the years as modern systemic therapies have evolved.

Materials and methods

We have analyzed 220 consecutive patients diagnosed with advanced melanoma (stage III and IV according to Cancer Staging Manual of AJCC 2018 classification), treated with ILP (Melphalan or Melphalan associated with TNF-alpha) at the Istituto Oncologico Veneto (IOV) and at the Padua University Hospital (AOPD), over a period between June 1989 and September 2021. Local disease-free survival (LDFS), distant disease-free survival (DDFS) and melanoma specific survival (MMS) were evaluated; local toxicities were classified according to the Wieberdink scale and surgical complications according to the Clavien-Dindo classification. The response to locoregional therapy was evaluated during follow-up according to RECIST 1.1 criteria (Response Evaluation Criteria In Solid Tumor).

Aim of the study

The primary aim of this study is to evaluate the role of ILP in the treatment of locally advanced unresectable melanoma, in particularly in relation to modern systemic therapies.

Results

Of the 220 patients treated with ILP, 23 were excluded due to lack of data at follow-up. The actual population of 198 patients was then stratified according to the therapies given in association with perfusion, defining 4 main groups: ILP, ILP + IT, ILP + CT, ILP + CT + IT.

In order to reduce potential information bias, all therapies with palliative settings were excluded from the chemotherapy category.

The OR, CR and PR rates, as well as the frequency with which local toxicities occurred, categorized according to Wieberdink scale, are consistent with the literature.

The analysis focused on the assessment of local DFS, distant DFS, 3-year OS, calculated separately for the defined groups. Local DFS and OS were found to be markedly increased in the ILP + IT group; no statistically significant differences were found for distant DFS.

Conclusions

The results confirm the synergy between ILP and immunotherapy, understood in both its classical and modern forms, in terms of OS and local DFS. The processes underlying this evidence can be found in the modification of the tumor microenvironment associated with locoregional treatment; further studies are needed.

1 Introduzione

1.1 Generalità

Il melanoma è un tumore maligno che origina dai melanociti, la cui derivazione embriologica è da ricondurre alle cellule della cresta neurale che migrano a livello di cute, mucose, uvea, meningi e porzione craniale dell'esofago. Tali cellule sono caratterizzate dalla capacità di produrre melanina, pigmento adibito alla protezione dai raggi UV costituenti la luce del sole^{1,2}.

La maggioranza dei melanomi si localizza a livello cutaneo; , di questi il 70% circa origina da melanociti presenti nello strato basale dell'epidermide e solo il restante 30% origina da melanociti costituenti nevi¹.

Nonostante l'aumento di incidenza costante rilevato negli ultimi anni, la prevalenza risulta inalterata come conseguenza della riduzione della mortalità, seguita sia all'introduzione delle moderne terapie sistemiche sia all'aumento della consapevolezza pubblica per quanto concerne le strategie di prevenzione.³

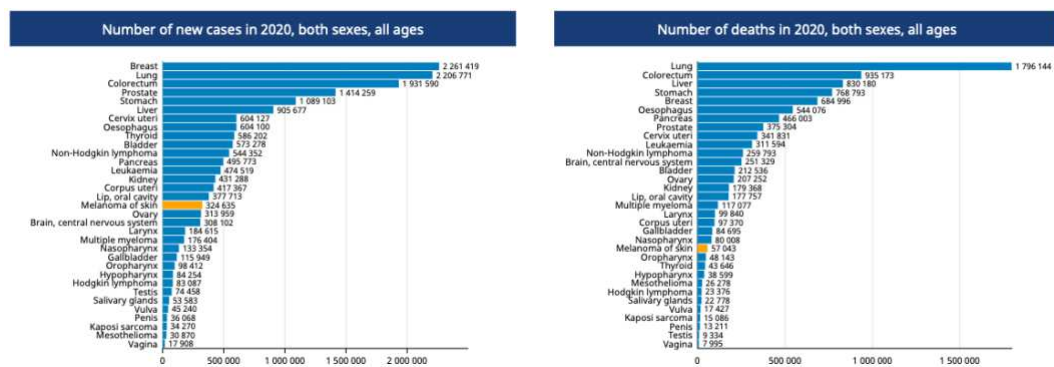


Figura 1: Incidenza e mortalità del melanoma nel mondo (Globocan, 2020)

1.2 Epidemiologia

1.2.1 Dati globali

Le statistiche a cui si fa di seguito riferimento riguardano la popolazione caucasica, nella quale abbiamo un rapporto maschi/femmine pari a 1.3/1, con un'età media alla diagnosi di circa 60 anni.⁴⁻⁶

Pur rappresentando solo l'1% delle neoplasie maligne della cute il melanoma cutaneo (MC) è responsabile dell'80% delle morti associate ai tumori cutanei, costituendo l'1.7% delle diagnosi annue di cancro. L'incidenza del melanoma è in aumento, con una crescita del 320% annua registrata negli U.S.A. a partire dal 1975 (tassi d'incidenza età-standardizzati di 3.8/100.000 nella popolazione maschile, 3/100.000 nella popolazione femminile, con un rischio cumulativo rispettivamente del 2.2 e dell'1.5). Parallelamente il tasso di mortalità risulta ridotto per un incremento del 258% del numero di pazienti che convivono con metastasi da melanoma, registrato dal 1990 al 2018%.³⁻⁶

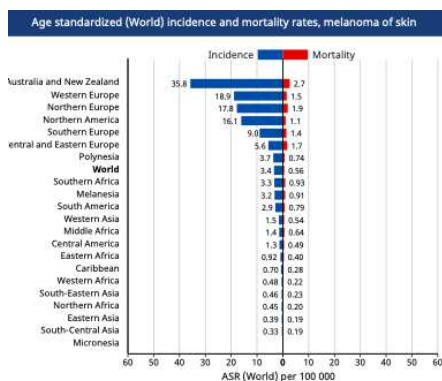


Figura 2: Incidenza e mortalità standardizzate per età del melanoma nel mondo (Globocan, 2020)

Il trend d'incidenza in aumento è ascrivibile prevalentemente a due fattori, che sono:

- l'aumentata efficacia diagnostica (che si fonda sull'accuratezza dello screening periodico dei nevi, sulle campagne di prevenzione e sulla crescente consapevolezza individuale)

- l'aumentata esposizione al principale fattore di rischio, la luce UV. Quest'ultima conseguenza del riconoscimento dell'abbronzatura come elemento dal valore estetico.^{1,7-10}

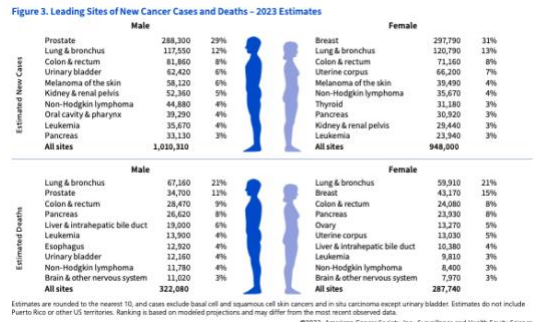
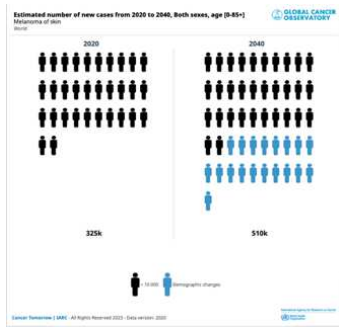


Figura 3: Nuovi casi di cancro stimati in aumento nel periodo 2020-2040 (Globocan, 2020)

Figura 4: Nuovi casi di cancro stimati per sito nel 2023 (A Cancer Journal for Clinicians, 2023)

1.2.2 Differenze geografiche

Il rischio cumulativo di sviluppare melanoma nel corso della vita varia ampiamente tra regioni geografiche, con picchi massimi in Australia e Nuova Zelanda ¹¹ (in entrambe le nazioni terzo tumore per incidenza) poiché presentano alte percentuali di soggetti dalla carnagione chiara ed elevata esposizione a raggi UV, dovuta alla ridotta latitudine.

In tutto il mondo si osserva un gradiente di incidenza nord-sud, che conferma l'ipotesi che l'esposizione ai raggi UV sia il principale fattore di rischio per lo sviluppo del melanoma maligno.⁷⁻⁹

	Cancer incidence and mortality statistics worldwide and by region											
	Incidence					Mortality						
	Both sexes		Males		Females		Both sexes		Males		Females	
New cases	Cum. risk 0-74 (%)	New cases	Cum. risk 0-74 (%)	New cases	Cum. risk 0-74 (%)	Deaths	Cum. risk 0-74 (%)	Deaths	Cum. risk 0-74 (%)	Deaths	Cum. risk 0-74 (%)	
Eastern Africa	2 056	0.10	735	0.07	1 321	0.12	856	0.04	305	0.03	551	0.05
Middle Africa	1 099	0.19	593	0.23	506	0.15	469	0.08	255	0.10	214	0.07
Northern Africa	968	0.05	478	0.05	490	0.05	429	0.02	205	0.02	228	0.02
Southern Africa	1 885	0.36	968	0.45	917	0.28	517	0.10	288	0.13	229	0.08
Western Africa	955	0.06	337	0.04	618	0.07	408	0.02	140	0.02	268	0.03
Caribbean	414	0.07	232	0.09	182	0.06	179	0.03	105	0.04	74	0.02
Central America	2 462	0.15	1 199	0.16	1 263	0.13	959	0.05	564	0.07	395	0.04
South America	16 015	0.29	7 802	0.32	8 213	0.27	4 519	0.08	2 548	0.10	1 973	0.06
Northern America	105 172	1.76	61 675	2.06	43 497	1.50	8 412	0.12	1 443	0.16	2 969	0.08
Eastern Asia	10 427	0.04	5 474	0.05	5 953	0.04	5 436	0.02	2 917	0.02	2 519	0.02
South Eastern Asia	3 275	0.05	1 762	0.06	1 513	0.05	1 616	0.03	848	0.03	768	0.02
South-Central Asia	6 232	0.04	3 312	0.04	2 920	0.03	3 579	0.02	2 004	0.02	1 575	0.02
Western Asia	3 819	0.17	1 922	0.18	1 897	0.16	1 355	0.05	807	0.07	549	0.04
Central and Eastern Europe	27 983	0.62	12 191	0.65	15 892	0.60	9 722	0.18	4 614	0.23	4 608	0.15
Western Europe	65 168	1.99	34 745	2.11	30 423	1.89	7 415	0.16	4 300	0.20	3 115	0.13
Southern Europe	23 915	0.93	12 436	0.99	11 479	0.88	4 926	0.15	2 977	0.20	1 949	0.10
Northern Europe	13 951	1.91	16 937	1.92	16 614	1.91	4 747	0.20	2 814	0.26	1 933	0.15
Australia and New Zealand	18 972	3.36	11 003	4.67	7 969	3.29	1 880	0.27	1 212	0.36	668	0.18
Malaysia	240	0.33	109	0.28	131	0.38	64	0.08	37	0.08	27	0.08
Polynesia	27	0.42	14	0.47	13	0.38	5	0.10	4	0.14	1	0.05
Micronesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Low HDI	3 728	0.09	1 538	0.08	2 190	0.09	1 647	0.04	686	0.04	981	0.04
Medium HDI	7 121	0.24	3 629	0.24	3 492	0.24	3 803	0.02	2 085	0.02	1 778	0.02
High HDI	35 597	0.10	17 517	0.10	18 080	0.09	13 167	0.04	7 255	0.04	5 912	0.03
Very high HDI	277 993	1.12	151 055	1.25	126 938	1.02	38 352	0.13	22 351	0.16	16 001	0.09
World	324 635	0.37	172 844	0.42	150 791	0.33	57 043	0.06	32 388	0.07	24 638	0.05

Figura 5: Incidenza e mortalità del melanoma nel mondo stratificate per regione (Globocan, 2020)

Si osserva inoltre un aumento del rischio di sviluppare melanoma per altitudini superiori ai 700m dal livello del mare, per un aumento dell'esposizione ai raggi UV e una riduzione degli strati protettivi di atmosfera soprastanti. Questo dato corrisponde anche ad un aumento di incidenza negli abitanti delle zone montane e nei soggetti che praticano sport ad alta quota.^{8,10}

1.2.3 Differenze di etnia

L'etnia agisce in maniera netta sull'incidenza del melanoma della cute, soggetti con cute scura presentano maggiori livelli di melanina rispetto a soggetti con cute chiara e quindi, sono dotati di un grado di protezione maggiore nei confronti dell'effetto cancerogeno dei raggi UV. Ciò contribuisce a ridurre in maniera drastica il rischio per i soggetti afroamericani, nativi americani e sudamericani.

Il melanoma si configura come il cancro con la maggiore differenza percentuale di mortalità tra differenti gruppi etnici, nello specifico la popolazione afroamericana presenta un rischio di morire di melanoma aumentato del 33% rispetto alla popolazione bianca, così come la popolazione AIAN (American Indian and Alaska Natives) presenta un rischio aumentato del 51%.^{12,13}

TABLE 4 Trends in 5-year relative survival rates (%) by race, United States, 1975-2019*

Cancer site	All races & ethnicities			White			Black		
	1975-1977	1995-1997	2012-2018	1975-1977	1995-1997	2012-2018	1975-1977	1995-1997	2012-2018
All sites	49	63	68	50	64	69	39	54	64
Brain & other nervous system	23	32	33	22	31	29	25	39	40
Breast (female)	75	87	91	76	89	92	62	75	83
Colon & rectum	50	61	65	50	62	65	45	54	60
Colon	51	61	63	51	62	64	45	54	58
Rectum	48	62	68	48	62	67	44	55	65
Esophagus	5	13	21	4	14	22	4	9	15
Hodgkin lymphoma	72	84	89	72	85	90	70	82	87
Kidney & renal pelvis	50	62	77	50	62	76	49	62	77
Larynx	66	66	61	67	68	62	58	52	53
Leukemia	34	48	66	35	50	67	33	42	62
Liver & intrahepatic bile duct	3	7	21	3	7	20	2	4	19
Lung & bronchus	12	15	23	12	15	23	11	13	21
Melanoma of the skin	82	91	94	82	91	94	57 ^b	76 ^b	70
Myeloma	25	32	58	24	32	57	29	32	60
Non-Hodgkin lymphoma	47	56	74	47	57	75	49	49	70

Figura 6: Sopravvivenza a 5 anni stratificata per etnia negli Stati Uniti (A Cancer Journal for Clinicians, 2023)

Questo si spiega perché queste etnie hanno: maggiore disparità di accesso ai più moderni trattamenti, ritardo diagnostico, differenti comportamenti messi in atto per proteggersi dal danno UV, disuguaglianze sociali, economiche.¹⁴⁻¹⁶

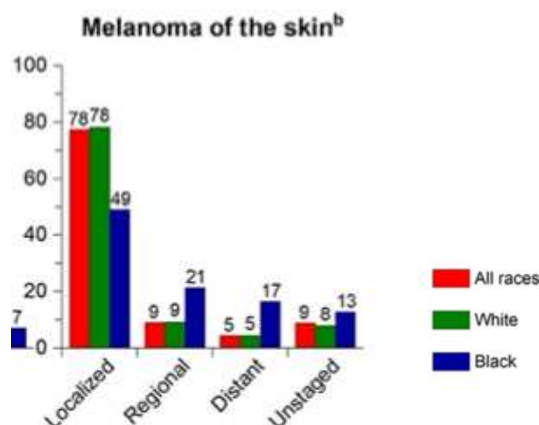


Figura 7: Distribuzione per stadi alla diagnosi stratificati per etnia (A Cancer Journal for Clinicians, 2023)

Nell'etnia afroamericana le zone più frequentemente interessate dallo sviluppo di melanoma sono i palmi delle mani, le piante dei piedi e il letto ungueale.

Per quanto concerne i sottotipi, il melanoma acrale lentiginoso si configura come quello più diagnosticato nella popolazione nera, caratterizzato da una prognosi peggiore e associato a fattori di rischio genetici e ambientali, quali il numero di nevi e traumi pregressi, ancora da identificare, comunque non correlato al danno da UV.^{8,13}

1.2.4 Differenze di genere e di sesso biologico

Uomini e donne vanno incontro nel corso della vita ad un rischio differente di ammalarsi di melanoma, rischio che varia anche strettamente in funzione dell'età: prima dei 40 anni l'incidenza risulta maggiore nelle donne, superati i 40 anni la tendenza si inverte e la popolazione più colpita risulta quella maschile.^{5,17,18}

Queste differenze, che si manifestano anche in termini di sede, con la popolazione femminile più suscettibile a melanoma degli arti inferiori e quella maschile a melanomi del tronco e degli arti superiori, sono ampiamente ascrivibili ai diversi comportamenti messi in atto nei confronti della prevenzione.

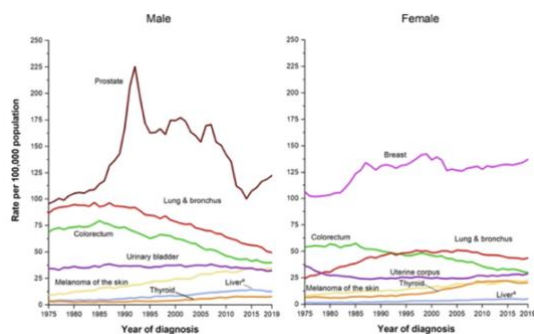


Figura 8: Andamento dei tassi di incidenza di alcuni tumori selezionati stratificati per sesso negli Stati Uniti (*A Cancer Journal for Clinicians*, 2023)

Il trend d'incidenza genere-specifico risulta valido anche all'interno delle varie minoranze, fatta esclusione della popolazione AIAN.¹³

Accanto a queste differenze di genere, definite da fattori prettamente sociali, sono ipotizzate, anche se tutt'ora incerte, influenze ormonali, correlate al sesso biologico. Tra le variabili potenzialmente responsabili della distribuzione bimodale in termini di incidenza e mortalità, ricordiamo il differente assetto ormonale: nei soggetti di sesso femminile la presenza di maggiori livelli di estrogeni è responsabile della stimolazione trascrizionale di IFN gamma, che svolge un ruolo fondamentale nell'espansione della popolazione cellulare T; così come la preponderanza a livello cutaneo di recettori per gli estrogeni di tipo beta (ER beta), che mediano un effetto pro-apoptotico ed anti-proliferativo.¹⁹

Numerosi fattori entrano in gioco nella definizione delle differenze in termini di incidenza e mortalità tra i due sessi, al giorno d'oggi poco conosciuti, che necessiterebbero di un ulteriore approfondimento, tenendo in considerazione i numerosi bias vigenti, correlati alla forte sottorappresentazione delle donne negli studi clinici randomizzati che si occupano di testare i moderni immunoterapici.^{20,21}

1.2.5 Differenze di sede

Escludendo dalle analisi il melanoma nella sua forma di lentigo maligna (LM), per la quale l'esposizione cronica al sole è ampiamente riconosciuta come causa principale, sia per la forma nodulare (NM) che per quella a diffusione superficiale (SSM) sono state riscontrate differenze di pattern d'esposizione solare a seconda della sede d'insorgenza.^{8,22}

I melanomi a carico della testa e del collo risultano associati a pattern d'esposizione cronici, quindi, si verificano con maggiore frequenza in soggetti con alti livelli di esposizione solare cumulativi: i melanomi del tronco hanno incidenza maggiore nei soggetti con bassi livelli di esposizione cumulativa ma alti livelli di esposizione ricreazionale, secondo pattern intermittenti.

La popolazione prevalentemente colpita da melanomi della testa e del collo è quella dei lavoratori outdoor, che merita particolare attenzione in ambito di prevenzione.⁷

1.2.6 Mortalità

I tassi di mortalità, contrariamente a quelli di incidenza, sono in declino negli ultimi dieci anni, con una riduzione annua del 5% negli under 50 e del 3% negli over 50; secondo i dati GLOBOCAN 2020, la mortalità età-standardizzata nel mondo per melanoma è stata pari allo 0.7/100.000 per gli uomini e allo 0.4/100.000 per le donne.^{4,6,12,17,23}

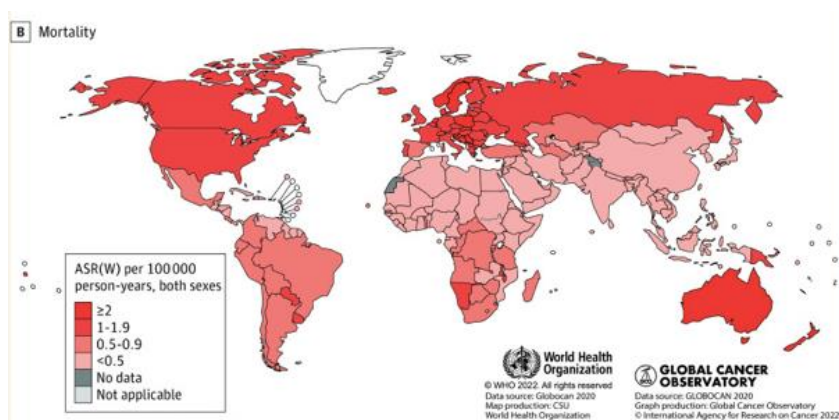


Figura 9: Mortalità nel mondo su 100.000 persone/anno (Globocan, 2020)

Questo decremento è ascrivibile prevalentemente allo sviluppo ed alla messa in commercio, a partire dal 2011, delle moderne terapie sistemiche, inibitori tirosin-chinasici (TKI) ed inibitori dei check-point immunitari (ICI).

I tassi di mortalità più alti sono da ricondurre agli uomini, alle persone di etnia afroamericana, alle basse latitudini, ad altitudini superiori ai 700m dal livello del mare, a sedi peculiari come piante dei piedi e letto ungueale.

La sopravvivenza a 5 anni è del 99.4% allo stadio I e II, scende al 68.0% nello stadio III e al 29.8% nello stadio IV, con la maggioranza delle diagnosi effettuate in stadio I e II.^{6,23}

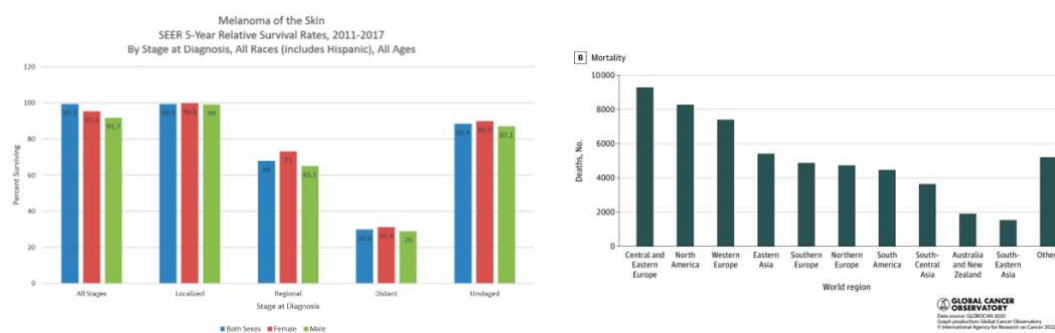


Figura 10: Sopravvivenza a 5 anni stratificata per stadio della malattia alla diagnosi (Medical Science, 2021)

Figura 11: Mortalità per regioni del mondo (Globocan, 2020)

1.2.7 Epidemiologia in Italia

In Italia nel 2022 si sono registrati circa 12.700 nuove diagnosi di melanoma, con 7.000 uomini e 5.700 donne, dati che definiscono il melanoma come il terzo tumore più comune, in entrambi i sessi, negli under 50. In linea con le tendenze globali, anche in Italia si è registrato un aumento di diagnosi di melanoma, associato ad una parallela diminuzione della mortalità.

La prevalenza, influenzata dalla bassa mortalità e dalla sopravvivenza a 5 anni pari all'88% negli uomini ed al 91% nelle donne, si attesta sulle 169.000 persone, 80.100 uomini e 89.800 donne.^{9,10}

	Uomini (x1.000)			Donne (x1.000)			Totale 2022 uomini e donne (x1.000)
	Anno			Anno			
	2020	2025	2022	2020	2025	2022	
Tutti tranne cute Nm	199,5	213,8	205,0	183,2	189,5	185,7	390,7
Mammella				55,1	54,5	55,7	55,7
Colon-Retto	25,2	27,2	26,0	21,4	23,2	22,1	48,1
Polmone	28,4	30,8	29,3	13,6	16,3	14,6	43,9
Prostata	39,3	42,3	40,5				40,5
Vescica	22,5	24,5	23,3	5,8	6,1	5,9	29,2
Stomaco	8,5	9,3	8,8	5,8	6,1	5,9	14,7
Pancreas	6,4	7	6,6	7,7	8,2	7,9	14,5
Linfomi NH	7,9	8,3	8,1	6,2	6,4	6,3	14,4
Melanoma	6,9	7,1	7,0	5,7	5,7	5,7	12,7
Rene	7,6	8,1	7,8	4,7	4,9	4,8	12,4
Tiroide	3,5	3,5	3,5	8,8	8,6	8,7	12,2
Fegato	7,9	8,4	8,1	3,9	4,1	4,0	12,1
Endometrio				10,0	10,4	10,2	10,2
Leucemie	5,1	5,5	5,3	4,2	4,4	4,3	9,4

Figura 12: Incidenza di nuove diagnosi di tumore nel 2020 rispetto al 2019 per sede e sesso (I numeri del cancro in Italia, AIOM, 2022)

La percentuale di pazienti definibili in guarigione, quindi senza segni clinici di malattia e con aspettativa di vita pari a persone di pari età e sesso non malate di tumore, è tra le più alte in assoluto, pari al 76% negli uomini e all'86% nelle donne, seconda solo al tumore al testicolo nella popolazione maschile ed al tumore alla tiroide nella popolazione femminile.²¹

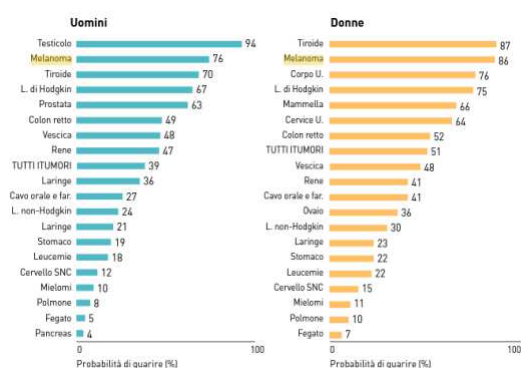


Figura 13: Probabilità di guarire dopo una diagnosi di tumore in Italia (I numeri del cancro in Italia, AIOM, 2022)

Il tempo per la guarigione (numero di anni necessari affinché l'eccesso di mortalità dovuto alla diagnosi diventi irrilevante) è anch'esso tra i più bassi in assoluto, variabile da 6 a 10 anni.²⁴

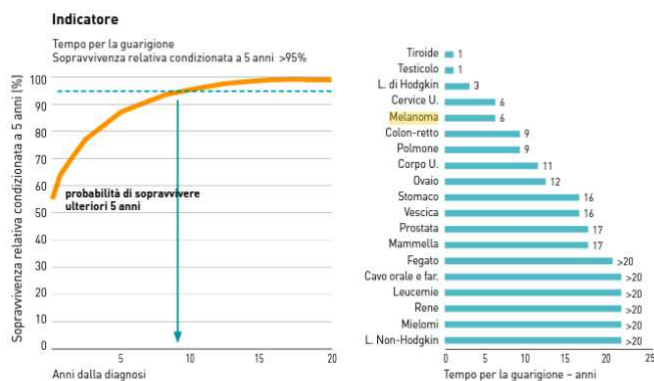


Figura 14: Tempo per la guarigione dei pazienti dopo una diagnosi di tumore in Italia (I numeri del cancro in Italia, AIOM, 2022)

1.3 Fattori di rischio

1.3.1 Fattori di rischio ambientali

Numerosi studi si sono concentrati nel corso degli anni sul definire i fattori di rischio alla base dell'insorgenza del melanoma, con lo scopo principale di definire meglio le strategie preventive. Il principale fattore che svolge un ruolo fondamentale nella patogenesi del melanoma è l'esposizione ai raggi UV, la cui fonte primaria è la luce solare.^{7,25,26} Considerando il flusso cumulativo di raggi UV, che tiene conto di latitudine, altitudine e copertura nuvolosa, si è osservato come il rischio di sviluppare melanoma non fosse correlato tanto al flusso cumulativo quanto al numero di scottature solari verificatesi tra i 15 ed i 20 anni.^{8,22} L'associazione è tanto più forte quanto più in giovane età si verifica il danno UV correlato, il quale dipende strettamente sia dalla concentrazione cutanea di eumelanina, sia dalla lunghezza d'onda della radiazione UV. La melanina, in particolar modo nella sua forma di eumelanina, ha intrinseche capacità antiossidanti, mediate dall'ossidazione del NADH e dal trasferimento di elettroni, quindi, agisce da fattore protettivo nei confronti dei raggi UV.

Da un lato l'eumelanina protegge dai danni al DNA mediati dai raggi UV, dall'altro il processo di melanogenesi diminuisce la produzione cutanea di vitamina D3 e, paradossalmente, costituisce un fattore di rischio per lo sviluppo di melanoma. Gli stimoli che attivano la melanogenesi (ad esempio i raggi UV) possono inibire l'apoptosi e facilitare la proliferazione cellulare, con il rischio di accumulare mutazioni secondarie che portano a una disregolazione della melanogenesi stessa.

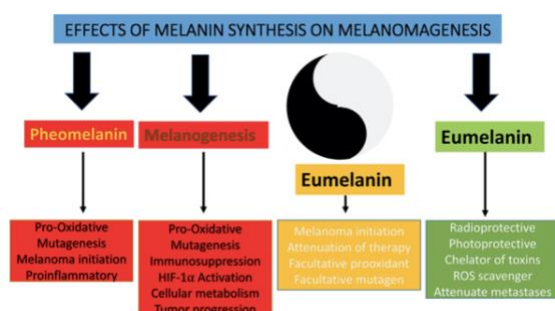


Figura 15: Effetti della melanina (Frontiers in Oncology, 2022)

Dal processo di melanogenesi disregolata derivano intermedi tossici, una riduzione della produzione di melanina ed una spinta verso lo switch metabolico, con conseguente enhancement del processo di cancerogenesi secondo un meccanismo a feedback positivo.¹

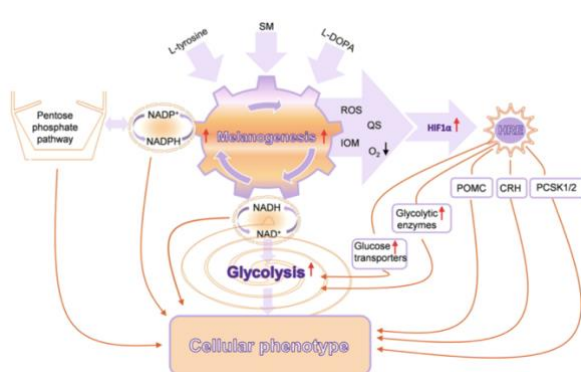


Figura 16: Interazione tra melanogenesi, metabolismo del glucosio e pathway HIF-1 dipendenti (Frontiers in Oncology, 2022)

Altro fattore di rischio è l'utilizzo di lampade abbronzanti, classificate da IARC come cancerogene in quanto espongono il soggetto a dosi di UVA maggiori rispetto a quelle della luce solare per la maggior parte delle altitudini.

^{25,26}Un'analisi pubblicata sul JAMA Dermatology teorizza come proibendo l'indoor tanning ai minori di 35 anni si potrebbero evitare circa 448.000 casi di melanoma.²⁷

La popolazione più a rischio in questi termini è quella delle donne bianche, non-ispaniche, giovani.

Fattori ambientali che sembrano avere un ruolo nell'aumento del rischio di sviluppare melanoma sono i derivati del petrolio ed il benzene, così come numerosi inquinanti ambientali prodotti da industrie chimiche, discariche, raffinerie.

1.3.2 Fattori di rischio individuali

Il principale fattore di rischio individuale è il numero di nevi. I nevi, definibili come proliferazioni benigne di melanociti, rappresentano sia un marker di aumentato rischio di sviluppare melanoma sia potenziali lesioni preneoplastiche. Studi recenti sostengono che soggetti con un numero di nevi > 100 presentano un rischio di contrarre melanoma aumentato di 7 volte rispetto ad individui con meno di 15 nevi.

Oltre al numero di nevi, un altro fattore di rischio è il fototipo, definito dalle concentrazioni di eumelanina e feomelanina: fototipi più chiari sono esposti ad un rischio maggiore rispetto a fototipi più scuri.^{28,29}

1.3.3 Sindromi genetiche

Un'anamnesi familiare positiva per melanoma rappresenta anch'essa un fattore di rischio, con un 10% dei melanomi caratterizzati da clusterizzazione familiare, però di questi solo una percentuale minima è ascrivibile a sindromi genetiche.

La più frequente di queste è la sindrome da melanoma familiare con nevi multipli atipici (FAMMM), causata da mutazione germline del gene tumor suppressor CDKN2A, che produce come trascritti p16 e p14.

La FAMMM si può presentare sia nella sua forma semplice (OMIM 155601) sia nella sua forma associata al cancro al pancreas (OMIM 606719), sia nella sua forma melanoma-astrocitoma (OMIM 155755). CDKN2A si ritrova frequentemente mutato anche nelle forme sporadiche. Secondo le linee guida ASCO il test genetico è indicato in tutte quelle condizioni che conferiscano al soggetto una probabilità superiore al 10% di presentare mutazione a carico del gene CDKN2A predisponente allo sviluppo di melanoma, quindi, risultano inclusi i pazienti con melanoma multiplo e con storia familiare fortemente positiva.

Le restanti sindrome genetiche sono definite come “mixed cancer syndromes”, in quanto caratterizzate da mutazioni germline che aumentano il rischio di sviluppare diversi tipi di cancro, incluso il melanoma.

Tra di esse ricordiamo brevemente la sindrome di Cowden da mutazione di PTEN, la sindrome da predisposizione ai tumori correlata a BAP1, la sindrome di Li Fraumeni da mutazione di p53, la sindrome del cancro ereditario della mammella e dell’ovaio da mutazione di BRCA1 e BRCA2, le mutazioni germline a carico di RB1 e dei geni del complesso Xeroderma Pigmentoso (XP).³⁰⁻³²

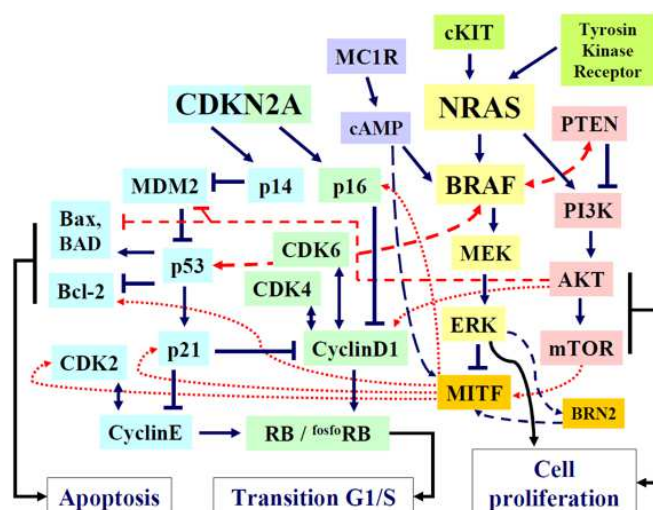


Figura 17: Principali pathway coinvolti nella melanogenesi (Melanoma - From Early Detection to Treatment, 2013)

1.3.4 Prevenzione

La prevenzione risulta fondamentale e se applicata fin dalla giovane età permette di ridurre sostanzialmente il numero di casi e porre diagnosi in uno stadio più precoce.

Per prevenzione primaria si intende l'educazione in termini di protezione dal danno solare. Le indicazioni dell'American Cancer Society (ACS) suggeriscono di evitare l'esposizione al sole tra le dieci di mattina e le quattro di pomeriggio, l'utilizzo di cappelli, vestiti, crema solare con SPF di almeno 30, proibiscono l'esposizione a fonti artificiali di raggi UV.

La prevenzione secondaria viene realizzata tramite le modalità dello screening dei nevi, esame clinico combinato con dermatoscopia, indirizzato a soggetti con anamnesi patologica o anamnesi familiare positiva per melanoma, con predisposizione genetica e con storia di esposizione significativa a raggi UV e carnagione chiara. Non vi sono evidenze di validità clinica nell'eseguire lo screening su adulti asintomatici privi di anamnesi positiva per patologia oncologica.^{7,28,33}

1.4 Classificazione clinica WHO 2018

1.4.1 Lentigo maligna melanoma

Il lentigo maligna melanoma rappresenta l'istotipo più frequentemente correlato ad alto danno solare cumulativo, con sedi preferenziali zigomi e tempie. L'età media alla diagnosi è di 70 anni. Il 10% circa dei melanomi si manifesta in forma di lentigo maligna.

All'esame macroscopico si osservano porzioni piatte, prevalentemente marroni con lievi sfumature grigie, e porzioni nodulari con colore variabile tra il marrone rossastro, il grigio e il nero; possono essere presenti aree più chiare di regressione.

Le zone piatte sono caratterizzate da crescita superficiale, quelle nodulari da crescita verticale.^{34,35}

1.4.2 Melanoma a diffusione superficiale

Il melanoma a diffusione superficiale rappresenta l'istotipo più frequente nella popolazione caucasica (il 65% di tutte le diagnosi di melanoma), correlato a basso danno solare cumulativo, con sedi preferenziali tronco negli uomini e arti inferiori nelle donne, con età media alla diagnosi di 40-50 anni.

All'esame macroscopico si osservano dei bordi distinguibili e palpabili, il colore varia ampiamente con zone marroni, rosse, nere e rosa, possono essere presenti aree chiare di regressione. Come per la lentigo maligna, all'origine la lesione ha crescita radiale, raggiunte le dimensioni di circa 1cm la crescita prosegue verticalmente.^{34,35}

1.4.3 Melanoma nodulare

Il melanoma nodulare rappresenta il 10-15% delle diagnosi di melanoma, associato sia ad alto che basso danno solare cumulativo. L'età media alla diagnosi si attesta attorno ai 40-50 anni, senza preferenza di sede alcuna.

All'esame macroscopico si osservano aree viola e nere, con colorazione uniforme o associate ad aree marroni, la crescita radiale è bypassata in funzione di una rapida crescita verticale che conferisce al melanoma nodulare le caratteristiche di istotipo più aggressivo.^{34,35}

1.4.4 Melanoma desmoplastico

Il melanoma desmoplastico rappresenta l'1-4% delle diagnosi di melanoma, si associa a danno solare cumulativo di alto e di basso grado, l'età media alla diagnosi è di 60 anni, con sedi preferenziali testa e collo.

All'esame macroscopico si presenta spesso non pigmentato, color carne o con qualche sfumatura rossa scura, eventualmente in forma di placca indolore, può mimare o associarsi ad altri istotipi pigmentati. Spesso, data la sua conformazione, la diagnosi avviene a stadi più avanzati, tuttavia, la scarsa tendenza alla metastatizzazione linfonodale gli conferisce una buona prognosi, anche se frequentemente si verificano recidive locali.^{34,35}

1.4.5 Melanoma lentiginoso acrale

Il melanoma lentiginoso acrale corrisponde al 5% delle diagnosi di melanoma, la sua incidenza varia ampiamente in funzione dell'etnia, raggiungendo il picco massimo all'interno della popolazione afroamericana ed ispanica, dove rappresenta il 50% di tutti i casi di melanoma.

L'età media alla diagnosi è di circa 60 anni, sedi preferenziali sono pianta dei piedi, palmi delle mani e letto ungueale, suggerendo potenziali correlazioni con lo stress meccanico a cui queste aree sono sottoposte; il danno solare cumulativo non svolge un ruolo cardine nello sviluppo di questo istotipo.

All'esame macroscopico si osserva come una macchia irregolare dal colore tendenzialmente scuro, con sfumature marrone scuro nelle porzioni piatte e blu-nere in quelle nodulari.^{34,35}

Esistono altre numerose presentazioni cliniche, rare, che singolarmente rappresentano circa l'1% delle diagnosi di melanoma cutaneo, quali: il melanoma spitzoide, il melanoma originatosi da nevo blu, infine, il melanoma originatosi da nevo melanocitico congenito gigante.³⁵

1.5 Classificazione molecolare

Numerosi studi epidemiologici e molecolari hanno dimostrato come il melanoma possa originare da svariati pathway molecolari aberranti, frutto sia dell'esposizione ad agenti ambientali cancerogeni sia della suscettibilità genetica individuale. Il melanoma si presenta quindi come una delle neoplasie con il più alto tasso di mutazioni per megabase, arrivando ad una stima di 20 mutazioni/Mb, siano esse a carico di lesioni primarie o metastatiche, variabile in funzione della sede e dell'istotipo in quanto il fattore discriminante è il danno UV mediato. L'effetto della radiazione UV, definito UV signature, è rappresentato dalle sostituzioni C>T, che costituiscono il 70-80% delle mutazioni somatiche melanoma.^{36,37}

Sulla base dell'assetto mutazionale analizzato tramite Next Generation Sequencing (NGS), il melanoma viene classificato in 3 sottotipi distinti, le cui mutazioni caratterizzanti risultano mutualmente esclusive:

- BRAF mutato: nel 95% dei casi si tratta della mutazione BRAF V600E, con sostituzione di una valina da parte di un acido glutammico al codone 600. A questa mutazione si accompagna un corredo mutazionale costituito da TP53, CDKN2A, PTEN e ARID2. Meno correlati al danno solare cumulativo.
- RAS mutato: comprendente NRAS, KRAS, HRAS, il gene coinvolto più frequentemente è NRAS con mutazioni a carico del codone 61, del codone 12 e del codone 13. A queste mutazioni si accompagna un corredo mutazionale costituito da TP53, CDKN2A, ARID2, NF1, PPP6C. Più fortemente correlati al danno solare cumulativo.
- Non-BRAF/non-RAS mutato: con corredo mutazionale di accompagnamento TP53, NF1, ARID2, RAC1.

Nei melanomi acrali e mucosali, in caso di negatività per BRAF e RAS, è indicata l'analisi di c-KIT, presente rispettivamente nel 15% e nel 20% dei casi, in quanto nei casi in stadio IV o in stadio III avanzato non resecabili la presenza di tale mutazione è indicazione alla terapia con Imatinib.

La classificazione molecolare si configura come uno strumento fondamentale nel percorso di cura del paziente oncologico, contestualmente nel caso del melanoma la positività a BRAF è indicazione all'utilizzo di inibitori di BRAF e di MEK, la mutazione di c-KIT all'utilizzo di inibitori di c-KIT e quella di RAS agli inibitori del pathway MAPK.^{24,38-40}

1.6 Diagnosi

L'inquadramento diagnostico fonda le sue radici nell'anamnesi e nell'esame obiettivo approfondito della cute, in particolar modo alle zone esposte al sole ed alle zone che il soggetto tende a non controllare in autonomia, come piante dei piedi, palmi delle mani, letto ungueale, scalpo, mucose orale e genitale. La diagnosi puramente clinica (sensibilità 50-85%) è molto difficoltosa e gravata dal peso dell'esperienza del clinico, viene associata alla dermatoscopia allo scopo di aumentarne il valore predittivo positivo.

L'identificazione di lesioni sospette, le quali andranno incontro successivamente a biopsia, segue le indicazioni del sistema ABCDE:

- Asimmetria
- Bordi irregolari
- Colore irregolare
- Dimensioni con diametro > 6mm
- Evoluzione

Di supporto, nei casi in cui il paziente presenti molteplici nevi atipici, ci si può servire del segno del "brutto anatroccolo", che consiste nell'identificazione di un nevo maggiormente atipico rispetto altri presenti nell'individuo, e per questo sospetto.

Tutte le lesioni sospette hanno indicazione alla rimozione chirurgica con margini di tessuto sano di 1-2mm, il campione conservato adeguatamente viene poi inviato all'anatomopatologo per la diagnosi.^{28,35,40} Gli altri tipi di biopsia sono da sconsigliare, con l'eccezione della biopsia incisionale, sia nel caso di sospetto

degenerativo di un nevo gigante, sia di un nevo in parti anatomiche la cui asportazione determinerebbe difetti estetici.

1.7 Fattori prognostici

1.7.1 Istotipo

L'istotipo rappresenta un fattore prognostico non indipendente. La prognosi peggiore è quella del melanoma nodulare, in funzione della sua insita immediata capacità di crescita verticale.⁴¹

1.7.2 Fase di crescita

Melanomi in cui sia documentata la presenza di una fase di crescita verticale, hanno prognosi peggiore in quanto caratterizzati da invasività e maggiore tendenza alla metastatizzazione.

1.7.3 Spessore di Breslow

Caratteristica prognostica di tale importanza da essere inserita tra i criteri di stadiazione, all'interno dei quali definisce il criterio T; maggiore è lo spessore, misurato in mm, peggiore è la prognosi e più avanzato è lo stadio.

Lo spessore di Breslow ha sostituito il livello di Clark nella definizione del parametro T all'interno dell'ultima evoluzione dell'attuale sistema di stadiazione secondo l'AJCC.⁴¹

1.7.4 Livello di Clark

Non più incluso nei criteri di stadiazione dell'AJCC, il livello di Clark permane all'interno dei referti, risultando tuttavia di ambiguo utilizzo data la difficoltà di riconoscere l'interfaccia tra i vari strati dell'epidermide, specie in zone caratterizzate da marcata elastosi solare.

Secondo alcuni clinici il livello di Clark conserva ancora un'utilità clinica in quanto tiene in considerazione del trofismo e dello spessore dell'epidermide in funzione dell'età del soggetto, dello stato nutrizionale e della localizzazione.

1.7.5 Ulcerazione

La presenza di ulcerazione rappresenta un fattore prognostico negativo di tale importanza da essere inserito tra i criteri dell'attuale sistema di stadiazione in forma di lettera minuscola associata al parametro T, dove con "a" si intende assenza di ulcerazione e con "b" melanoma ulcerato. Per essere definita la presenza di ulcera si devono osservare al microscopio caratteristiche quali: mancanza di epidermide a tutto spessore, iperplasia reattiva, fenomeni reattivi quali depositi di fibrina e infiltrazione neutrofilica.⁴²

1.7.6 Indice mitotico

L'indice mitotico, definito come numero di mitosi/mm² valutato nelle aree hot-spot, attualmente è stato eliminato dai criteri di stadiazione.

1.7.7 Linfociti infiltranti il tumore (TIL)

L'infiltrato linfocitario, che viene riportato nel referto diagnostico come "assente", "brisk" e "non brisk", a seconda che l'infiltrato sia presente a livello del fronte di crescita o comunque permei in maniera diffusa la massa tumorale o che sia segmentato al suo interno. L'infiltrato linfocitario intratumorale correla con una prognosi migliore oltre che rappresentare possibile la base per nuove frontiere terapeutiche.⁴³

1.7.8 Regressione

Per regressione si intende la sostituzione delle cellule tumorali con infiltrato infiammatorio mononucleato e/o fibrosi, è da considerarsi un potenziale fattore prognostico negativo in quanto associato frequentemente a sottostadiazione.

1.7.9 Microsatellitosi ed invasione linfo-vascolare

La microsatellitosi è definita come presenza di metastasi microscopica a livello cutaneo e/o sottocutaneo situata ad un minimo di 0.5mm fino ad un massimo di 2cm dal tumore primitivo.

L'identificazione di invasione linfo-vascolare è correlata ad un aumentato rischio di ricaduta a livello cutaneo ed allo sviluppo di metastasi in transito.

Le metastasi in transito e la microsatellitosi all'interno dell'ottava edizione AJCC rivestono un peso significativo, la loro positività isolata, anche in assenza di metastasi linfonodali, colloca automaticamente il paziente in stadio III (N1c, N2c, N3c), con considerevole impatto prognostico e terapeutico.⁴⁴

1.7.10 Assetto molecolare

Come accennato precedentemente, la classificazione molecolare assume un ruolo fondamentale nell'era delle moderne terapie sistemiche, la presenza di mutazioni specifiche negli anni si è evoluta, da fattore prognostico negativo a fattore predittivo positivo di risposta alla terapia.

1.8 Stadiazione AJCC 8° edizione (2018)

La stadiazione del melanoma segue il classico sistema TNM, basandosi sui criteri definiti dall'ottava edizione dell'American Joint Committee on Cancer, riportata per completezza.

Questo sistema si configura come quello più largamente utilizzato e standardizzato, in gradi di facilitare la stratificazione del rischio essenziale per definire il trattamento a cui sottoporre il singolo paziente.

1.8.1 Parametro T

T	Spessore di Breslow	Ulcerazione
T1	≤ 1.0 mm	
T1a	< 0.8 mm	Assente
T1b	< 0.8 mm	Presente
	$0.8 - 1.0$ mm	Assente/Presente
T2	$> 1.0 - 2.0$ mm	
T2a	$> 1.0 - 2.0$ mm	Assente
T2b	$> 1.0 - 2.0$ mm	Presente
T3	$> 2.0 - 4.0$ mm	
T3a	$> 2.0 - 4.0$ mm	Assente

T3b	> 2.0 - 4.0 mm	Presente
T4	> 4.0 mm	
T4a	> 4.0 mm	Assente
T4b	> 4.0 mm	Presente

Tabella 1: Parametro T nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018

Lo spessore secondo Breslow deve essere arrotondato al decimo di millimetro più vicino; Tx indica spessore non valutabile, T0 primario occulto, Tis melanoma in situ.

1.8.2 Parametro N

N	Numero linfonodi coinvolti	ITMs e/o microsatellitosi
N1	1 linfonodo coinvolto, oppure metastasi in transito, satelliti e/o microsatellitosi in assenza di linfonodi regionali coinvolti	
N1a	1 linfonodo clinicamente occulto	Assenti
N1b	1 linfonodo clinicamente diagnosticato	Assenti
N1c	Linfonodi regionali non coinvolti	Presenti
N2	2-3 linfonodi coinvolti, oppure metastasi in transito, satelliti e/o microsatellitosi con 1	

	linfonodo regionale coinvolto	
N2a	2-3 linfonodi clinicamente occulti	Assenti
N2v	2-3 linfonodi, di cui almeno 1 clinicamente diagnosticato	Assenti
N2c	1 linfonodo clinicamente occulto o clinicamente diagnosticato	Presenti
N3	4 o più linfonodi coinvolti, oppure metastasi in transito, satelliti e/o microsatellitosi con 2 o più linfonodi regionali coinvolti oppure un qualsiasi numero di pacchetti linfonodali	
N3a	4 o più linfonodi clinicamente occulti	Assenti
N3b	4 o più linfonodi, di cui almeno 1 clinicamente diagnosticato o presenza di un qualsiasi numero di pacchetti linfonodali	Assenti
N3c	2 o più linfonodi clinicamente occulti o clinicamente diagnosticati e/o presenza di un qualsiasi	Presenti

	numero di pacchetti linfonodali	
--	------------------------------------	--

Tabella 2: Parametro N nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018

Con linfonodi clinicamente occulti si intendono linfonodi diagnosticati al momento della biopsia del linfonodo sentinella, con pacchetti linfonodali si definiscono linfonodi confluenti. I satelliti sono definiti come metastasi cutanee e/o sottocutanee clinicamente evidenti, reperibili a distanza compresa tra 0.5mm e 2cm dal melanoma primitivo. Le metastasi in transito sono definite come metastasi dermiche e/o sottocutanee clinicamente evidenti, reperibili a distanza > 2.cm dal tumore primitivo, in un'area compresa tra il primitivo stesso ed il bacino di linfonodi loco-regionali drenanti.

1.8.3 Parametro M

M	Sede anatomica	LDH
M1	Evidenza di metastasi a distanza	
M1a	Metastasi a distanza a carico di cute, tessuti molli e/o linfonodi non regionali	Non valutato/non specificato
M1a (0)	Metastasi a distanza a carico di cute, tessuti molli e/o linfonodi non regionali	Non elevato
M1a (1)	Metastasi a distanza a carico di cute, tessuti molli e/o linfonodi non regionali	Elevato

M1b	Metastasi a distanza a carico del polmone	Non valutato/non specificato
M1b (0)	Metastasi a distanza a carico del polmone	Non elevato
M1b (1)	Metastasi a distanza a carico del polmone	Elevato
M1c	Metastasi a distanza a carico di sedi viscerali che non siano il SNC	Non valutato/non specificato
M1c (0)	Metastasi a distanza a carico di sedi viscerali che non siano il SNC	Non elevato
M1c (1)	Metastasi a distanza a carico di sedi viscerali che non siano il SNC	Elevato
M1d	Metastasi a distanza a carico del SNC	Non valutato/non specificato
M1d (0)	Metastasi a distanza a carico del SNC	Non elevato
M1d (1)	Metastasi a distanza a carico del SNC	Elevato

Tabella 3: Parametro M nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018

In termini di stadiazione, quindi di sopravvivenza e terapia indicata, hanno un ruolo decisivo sia la presenza di metastasi che la localizzazione di queste ultime; la valutazione dell'LDH sierico è importante indice prognostico e fattore predittivo di risposta alla terapia con l'associazione Dabrafenib + Trametinib.

1.8.4 Stadio patologico pTNM

T	N	M	pTNM
Tis	N0	M0	0
T1a	N0	M0	IA
T1b	N0	M0	IA
T2a	N0	M0	IB
T2b	N0	M0	IIA
T3a	N0	M0	IIA
T3b	N0	M0	IIB
T4a	N0	M0	IIB
T4b	N0	M0	IIC
T0	N1b, N1c	M0	IIIB
T0	N2b, N2c, N3b, N2c	M0	IIIC
T1a/b - T2a	N1a, N2a	M0	IIIA
T1a/b - T2a	N1b/c, N2b	M0	IIIB
T2b, T3a	N1a – N2b	M0	IIIB
T1a - T3a	N2c, N3a/b/c	M0	IIIC
T3b, T4a	Qualsiasi N \geq N1	M0	IIIC
T4b	N1a - N2c	M0	IIIC
T4b	N3a/b/c	M0	IIID
Qualsiasi T, Tis	Qualsiasi N	M1	IV

Tabella 4: Stadio patologico pTNM nella stadiazione del melanoma secondo la classificazione AJCC 2018

Nella tabella si fa riferimento alla stadiazione patologica (pTNM), che differisce da quella clinica in quanto definita a seguito di biopsia del linfonodo sentinella e linfoadenectomia del pacchetto locoregionale.⁴⁵

1.9 Terapia

1.9.1 Terapia chirurgica

La chirurgia rappresenta tutt'ora il trattamento d'elezione per il melanoma, a prescindere dallo stadio, anche in quanto parte integrante del processo di inquadramento diagnostico.

Storicamente i primi accenni in letteratura al trattamento chirurgico del melanoma risalgono al XIX secolo, prevalentemente concepiti come escissioni, amputazioni o bruciature con agenti caustici. Già negli ultimi anni dell'800, a Londra, veniva riconosciuta la validità scientifica di quella che noi attualmente definiamo linfadenectomia profilattica.

Nei secoli la chirurgia del melanoma è andata incontro ad una trasformazione mossa da intenti conservativi, cosa permessa dall'avvento di metodi di quantificazione prognostica, quali i livelli di Clark, risalenti al 1966, e la scala di Breslow, risalente al 1970 e tutt'ora inclusa nei criteri di stadiazione secondo l'AJCC.

L'approccio chirurgico al melanoma primitivo prevede prima l'escissione della lesione sospetta e successivamente margini di allargamento raccomandati in funzione dello spessore di Breslow alla diagnosi:

- Melanoma in situ: 5mm
- Melanoma con spessore ≤ 2 mm: 1cm
- Melanoma con spessore > 2 mm: 2 cm

Margini ridotti rispetto a quelli sopraindicati sono consentiti in caso di grave compromissione estetico-funzionale, purché il paziente venga posto sotto un regime di follow-up più ristretto.

La ricerca del linfonodo sentinella è un punto di snodo fondamentale del percorso diagnostico e per la definizione del parametro N, il rischio di coinvolgimento linfonodale è direttamente proporzionale allo spessore del melanoma.

La tecnica del linfonodo sentinella è una procedura che prevede, contestualmente alla radicalizzazione della cicatrice del melanoma primitivo, l'asportazione del

linfonodo drenante il territorio sul quale è insorto il melanoma, previa linfoscintigrafia dinamica.

La valutazione dello stato del linfonodo sentinella è fortemente raccomandata in tutti i pazienti pT1b, T2, T3, T4.

Nel caso di negatività del linfonodo sentinella c'è indicazione ad un atteggiamento conservativo, i linfonodi locoregionali vengono risparmiati e la linfoadenectomia differita ad un eventuale riscontro di metastasi linfonodali durante il follow-up. Nei soggetti con linfonodo sentinella positivo non c'è più indicazione in prima linea alla linfoadenectomia locoregionale,^{40,46} sostituita da terapia medica. L'unica indicazione allo svuotamento linfonodale rimane la presenza di linfonodo patologico diagnosticato con agoaspirato ecoguidato. Si può far riferimento al nomogramma sottostante, come supporto durante il processo decisionale, prodotto dallo studio multicentrico dell'Intergruppo Melanoma Italiano (IMI).⁴⁷

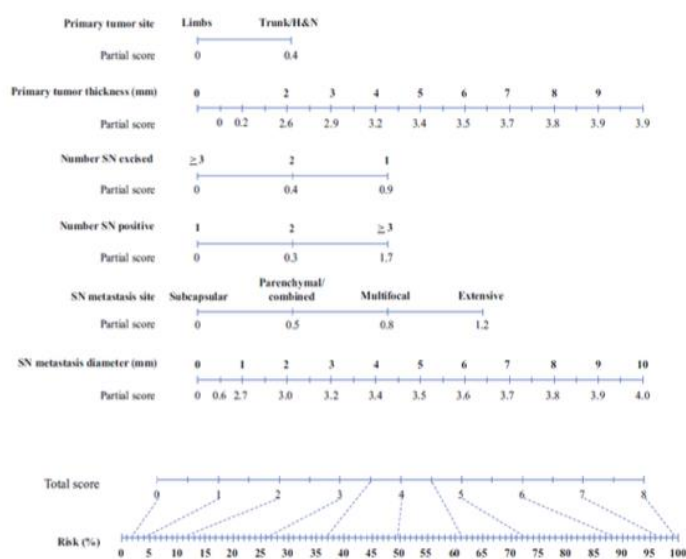


Figura 18: Nomogramma per la previsione dello stato dei linfonodi non-sentinella (*Annals of Surgical Oncology*, 2017)

Per la valutazione delle complicanze chirurgiche si fa riferimento alla classificazione di Clavien-Dindo:⁴⁸

Grado I	Ogni deviazione dal normale decorso post-operatorio che non necessiti di trattamento farmacologico, chirurgico, endoscopico e radiologico. Sono concessi: antiemetici, analgesici, antipiretici, diuretici, elettroliti e fisioterapia
Grado II	Richiede trattamento farmacologico con farmaci non compresi nel grado I, sono incluse trasfusioni e nutrizione parenterale
Grado III	Richiede trattamento chirurgico, endoscopico o radiologico
- IIIa	Intervento senza anestesia generale
- IIIb	Intervento con anestesia generale
Grado IV	Condizioni che mettono a rischio la vita del paziente, incluse complicazioni a carico del SNC, che richiedano ricovero in terapia intensiva
- IVa	Disfunzione a carico di singolo organo, inclusa dialisi
- IVb	Disfunzione multiorgano
Grado V	Morte del paziente

Tabella 5: Classificazione delle complicanze chirurgiche secondo Clavien-Dindo

1.9.2 Radioterapia

Nel tempo il ruolo della radioterapia nel trattamento del melanoma è cambiato radicalmente. Al termine del XX secolo veniva impiegata in associazione alla chirurgia nel trattamento del melano primitivo, attualmente svolge una funzione prettamente palliativa.

Se ne può valutare l'utilizzo in situazioni peculiari, caratterizzate da scarso controllo della malattia a livello locale, non responsiva agli altri trattamenti locoregionali.^{49,50}

La palliazione mediante radioterapia è consigliata nei casi di:

- secondarismi cerebrali, nella forma di radioterapia stereotassica (SRS) o più frequentemente di radioterapia panencefalica (WBRT)
- secondarismi ossei, specie se a carico vertebrale o a rischio di frattura
- tutti i casi in cui le metastasi data la sede e la dimensioni conducano alla riduzione della qualità della vita del paziente.

La radioterapia sui secondarismi non apporta miglioramenti in termini di OS.^{40,51}

1.9.3 Chemioterapia

La chemioterapia, similmente alla radioterapia, negli anni ha cambiato assetto ed indicazioni. Inizialmente concepita come terapia di prima linea nella forma di monoterapia con Decarbazina, intercambiabile con Fotemustina e Temozolomide, attualmente la chemioterapia è applicata al solo scopo palliativo, generalmente in monoterapia, con preferenza per Fotemustina o Temozolomide nel caso di localizzazioni cerebrali. Nel contesto palliativo è comunque considerata una seconda linea, successiva all'utilizzo di inibitori dei checkpoint immunitari o inibitori tirosin-chinasici, in quei pazienti che presentino mutazioni a carico di BRAF o di MEK.

Regimi polichemioterapici o di associazione con IL2 e INF alfa (ex protocollo TRECEM) non hanno dimostrato vantaggi in termini di sopravvivenza, risultando comunque gravati da maggiori effetti collaterali.⁴⁰

1.9.4 Immunoterapia

Attualmente vengono distinte cinque categorie di immunoterapia, in funzione dei processi che vi sono alla base e delle cellule del sistema immunitario prendono parte a tali processi:

- Inibitori dei checkpoint immunitari
- Terapie citochiniche
- Trasferimento adottivo di cellule T

- Vaccini anticancro
- Viroterapie oncolitiche

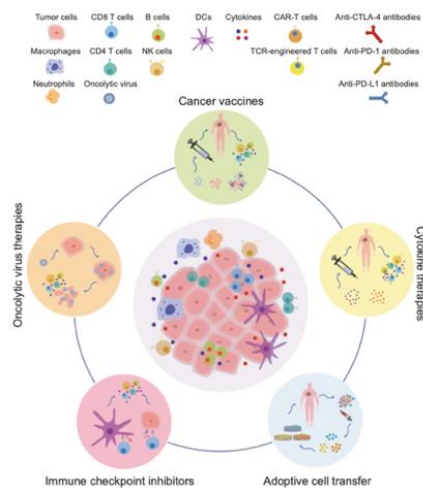


Figura 19: Principali categorie di immunoterapia (*Cellular & Molecular Immunology*, 2020)

Ai fini di questo lavoro l'accento verrà posto sull'immunoterapia nelle sue forme di terapia citochinica e di inibitori del checkpoint immunitario.

Tra le terapie citochiniche classiche ricordiamo l'IL2, in grado di supportare l'espansione delle cellule T, e l'interferone alfa (citochina pleiotropica) capace di stimolare la differenziazione delle cellule dendritiche, di amplificare la risposta T citotossica e di indurre senescenza ed apoptosi nelle cellule cancerose.

L'interferone, in passato utilizzato come trattamento di prima linea in setting adiuvante, svolge al giorno d'oggi un ruolo secondario. In quei casi dove non vi è indicazione alla terapia adiuvante di nuova generazione, come nei melanomi ulcerati e negli stadi IIB e IIC, l'interferone può essere preso in considerazione come prima linea adiuvante. La raccomandazione resta comunque debole, data l'esistenza delle più efficaci moderne terapie sistemiche.⁵²

Gli inibitori dei checkpoint immunitari (ICI), di recenti sviluppo, si sono configurati come la forma più importante ed efficace di immunoterapia, specie in ambito di melanoma. Il loro funzionamento si basa sull'inibizione dei checkpoint immunitari, che agiscono fisiologicamente nel processo di mantenimento della

tolleranza immunitaria e vengono sfruttati dalla cellula cancerosa per evadere la risposta immunitaria adattativa. Gli ICI, in quanto anticorpi monoclonali, si legano a queste specifiche molecole, inibendone l'azione e promuovendo l'eliminazione immuno-mediata delle cellule cancerose.

Tra gli inibitori dei checkpoint immunitari di utilizzo nella pratica clinica annoveriamo l'Ipilimumab (anti-CTLA4)^{53,54}, il Nivolumab^{55,56} e il Pembrolizumab⁵⁷⁻⁵⁹ (anti-PD1), l'Atezolizumab (anti-PDL1), il Relatimab (anti-LAG3).

Tratto caratteristico del trattamento immunoterapico è l'andamento della cinetica di risposta. Infatti, si verifica un iniziale apparente aumento del tumor burden, definito pseudoprogressione, dovuto all'infiltrato linfocitario, seguito da una seconda fase con una riduzione dello stesso.

Dalla necessità di valutare correttamente la risposta ritardata tipica degli inibitori dei checkpoint immunitari sono stati formulati dei criteri specifici, attualmente identificati dalla sigla iRECIST.⁶⁰

Le linee guida attuali prevedono l'utilizzo del Nivolumab, preferito all'Ipilimumab in studi di non-inferiorità soprattutto in funzione della riduzione degli effetti collaterali, in prima linea in pazienti che non presentino mutazione di BRAF e che presentino uno stadio superiore al III.

L'associazione Nivolumab + Ipilimumab risulta efficace e sicura, paragonata al solo Nivolumab, ed è stata approvata dall'EMA nel 2020, con indicazione forte in pazienti con bassa espressione di PDL1.⁶¹⁻⁶⁷

Oltre che in prima linea nel setting adiuvante, gli inibitori dei checkpoint immunitari sono indicati in prima linea anche nel setting palliativo, quindi per stadio III non resecabile e per stadio IV, previa valutazione di BRAF. Nel caso di metastasi cerebrali può essere indicata l'associazione radioterapia + Nivolumab.⁶⁸

1.9.5 Terapia target

Con la scoperta della mutazione di BRAF in quanto mutazione driver, il goal terapeutico, almeno per le forme mutate, è diventato quello di inibirne il funzionamento. Da queste necessità originano gli inibitori tirosin-chinasici specifici per BRAF, prima, e per MEK, poi, che dominano attualmente il panorama dei trattamenti disponibili per il melanoma avanzato.

Tutte le neoplasie che risultino BRAF positive, con uno stadio alla diagnosi uguale o superiore al III stadio, sono attualmente indicate al trattamento in prima linea adiuvante con associazione di inibitori di BRAF e di MEK, rispettivamente Vemurafenib e Trametinib.

Le metodiche molecolari comunemente utilizzate per la valutazione dello stato mutazionale di BRAF comprendono NGS, pirosequenziamento, real-time PCR; tale analisi è fortemente indicata in tutti i pazienti con melanoma in stadio III e IV. Analogamente a quanto osservato con gli inibitori dei checkpoint immunitari, la target therapy è indicata sia in prima linea in setting adiuvante, che in prima linea in setting palliativo in quei pazienti che presentino melanoma in stadio III non resecabile o in stadio IV, anche in caso di presenza di metastasi cerebrali.

Le linee guida prediligono l'utilizzo dell'associazione Vemurafenib + Trametinib, al Vemurafenib in singola terapia, in quanto associata ad un migliore tasso di risposta in termini di relapse-free survival (RFS).^{23,69,70}

Per completezza vengono riportate schematicamente le linee guida di trattamento in funzione dello stadio di malattia.

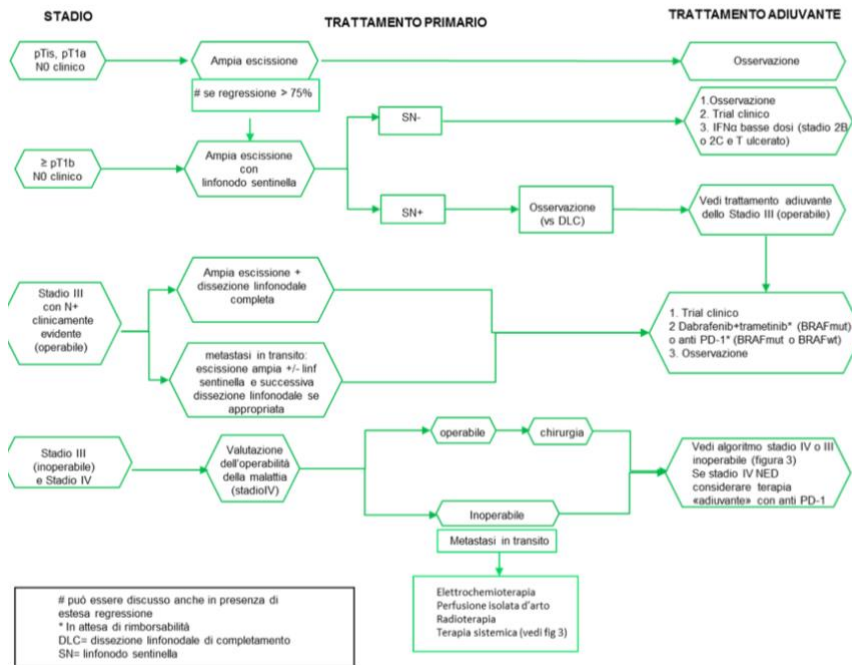


Figura 20: Indicazioni al trattamento del melanoma a seconda dello stadio (Linee Guida AIOM, 2019)

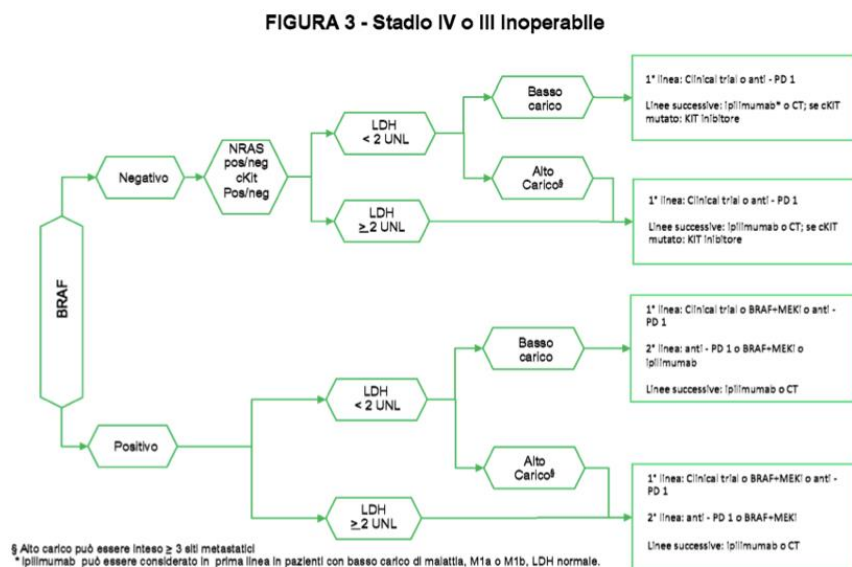


Figura 21: Indicazioni al trattamento del melanoma in stadio IV e stadio III inoperabile a seconda dello stato mutazionale di BRAF (Linee Guida AIOM, 2019)

1.9.6 Follow-up

Valutando rischi e benefici appare indicato adattare il follow-up, sia in termini di tempistiche che di strumentazione utilizzata, allo stadio di malattia, direttamente proporzionale al rischio di recidiva.⁴⁰

Per completezza vengono riportate schematicamente le indicazioni al follow-up specifiche per ogni stadio di malattia.

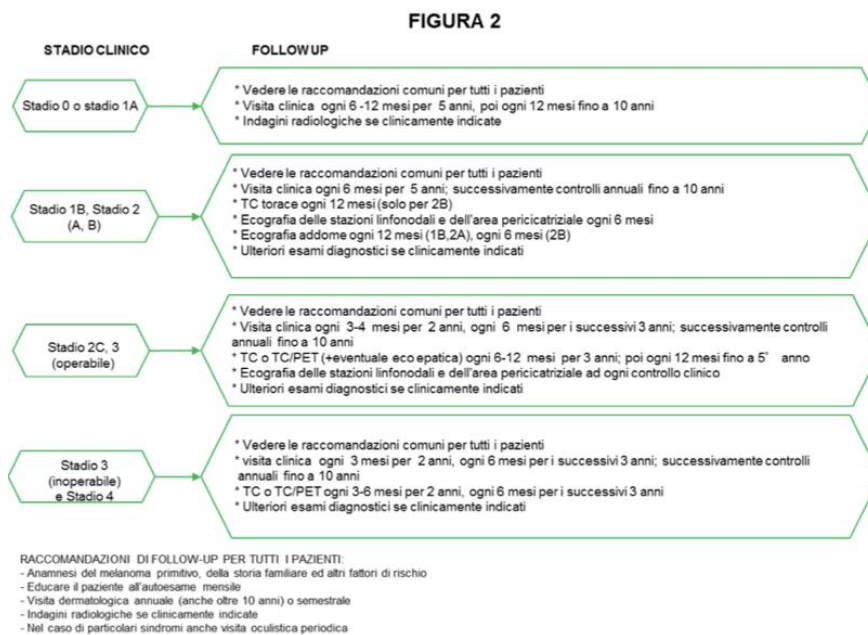


Figura 22: Indicazione al follow-up del melanoma a seconda dello stadio (Linee Guida AIOM, 2019)

1.10 Perfusione isolata di arto (ILP)

1.10.1 Principi della metodologia

L'idea di utilizzare la circolazione extracorporea regionale nel trattamento di alcuni tumori degli arti è stata realizzata nel 1957 da Creech e Kremets, i quali nel 1958 pubblicavano la loro prima esperienza preliminare concernente l'impiego della perfusione allo scopo di veicolare all'interno di arti affetti da neoplasie localmente avanzate dosi elevate (5-10 volte la massima dose sistemica) di farmaci antitumorali senza provocare tossicità sistemica rilevante.⁷¹

Questo intervento veniva effettuato in normotermia.

In quegli anni era stata condotta a Roma, presso l'Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori e l'Istituto di Chimica Biologica dell'Università "La Sapienza"⁷², tutta una serie di ricerche biochimiche e sperimentali che partendo da sporadiche osservazioni presenti in letteratura fin dal 1866 (Busch, 1866) avevano dimostrato una sensibilità selettiva al calore delle cellule di tumori sperimentali ed umani sopravvissuti in coltura. Al momento di trasferire nella pratica clinica queste acquisizioni è apparso del tutto logico impiegare la perfusione, già "collaudata" dai citati Autori statunitensi, opportunamente modificata mediante l'introduzione nel circuito di uno scambiatore di calore, per trasferire ipertermia, anziché farmaci antitumorali, in seno agli arti affetti da tumori non più suscettibili di exeresi conservativa. Scelta razionale perché consentiva ancora di ricorrere alla demolizione qualora la perfusione non si fosse dimostrata efficace o nel caso in cui la perfusione stessa avesse irreparabilmente danneggiato l'arto. Esperienze preliminari condotte su tumori sperimentali del ratto e spontanei del cane esposti per mezzo della perfusione a temperature sopranormali, tra 42° e 42.5°C, confermano l'azione selettivamente lesiva sulle cellule neoplastiche, non più in grado di riparare il danno sub-letale prodotto dalle temperature sopranormali, capacità evidentemente conservata dai tessuti normali a livello dei quali non si riscontravano danni irreparabili.

I primi risultati clinici resi noti⁷² dimostravano anche sull'uomo l'azione terapeutica dell'ipertermia e la selettività dell'azione stessa, ma con una

significativa incidenza di complicanze post-perfusionali che rendevano poco indicata la tecnica nei casi non destinati all'amputazione. Ciò era dovuto in parte all'inadeguatezza dei mezzi disponibili (pompa digitata, scambiatore di calore non adeguato, sistemi di rilievo delle temperature insufficienti, eccessiva termodispersione) ed in parte all'imperfetta conoscenza degli aspetti fisiopatologici dell'ipertermia (reazione sistemica all'aggressione ipertermica regionale, riassorbimento dei prodotti di disgregazione del tumore). Con il progredire delle acquisizioni tecniche e delle conoscenze si perveniva successivamente ad una soddisfacente standardizzazione del trattamento ed all'ampliamento delle indicazioni.

Negli anni immediatamente successivi si giungeva però⁷³ alla definitiva formulazione della tecnica con l'aggiunta di farmaci antitumorali nel circuito perfusionale e la contemporanea diminuzione per intensità e tempo di esposizione dell'ipertermia. È questa la perfusione ipertermica o ipertermico-antitumorale impiegata oggi nel trattamento di alcuni tumori degli arti, con alcune variazioni nelle diverse Istituzioni, concernenti prevalentemente i farmaci utilizzati e le temperature applicate. Queste ultime variano dalla normotermia (37-38°C) con il 41% di CR ed il 24% di PR ed una durata mediana del controllo locale di malattia di 6 mesi⁷⁴, all'ipertermia moderata (39-40°C) con un aumento della percentuale di CR, ma senza variazioni della durata del controllo locale⁷⁵⁻⁷⁷, all'ipertermia vera. Col termine di ipertermia vera, in accordo con la recente interpretazione di Eggermont e collaboratori (2003) si dovrebbe catalogare una temperatura oscillante tra 42 e 43°C. Ma è invero poco proponibile una perfusione condotta al di sopra dei 42°C, qualora si faccia ricorso alla contemporanea somministrazione di antitumorali, perché il potenziamento delle rispettive azioni si estrinseca anche a livello di tossicità locoregionale oltre che in senso terapeutico. Anche per questo, la temperatura ideale da mantenere a livello dell'arto nel corso della perfusione, per ottenere il massimo vantaggio terapeutico dovrebbe oscillare tra 41 e 41.8°C, che rientra a pieno titolo entro i limiti dell'ipertermia vera. Questa temperatura, nei melanomi in fase di diffusione locoregionale è dimostrata in grado di produrre un significativo incremento delle CR, che correlano con il controllo locoregionale della malattia e con la sopravvivenza libera da malattia e globale⁷⁸.

In realtà, si tratta di livelli termici nei quali si realizzano le complesse interazioni tra ipertermia e farmaci antiblastici, per cui all'azione diretta del calore su alcuni componenti della cellula neoplastica e su talune funzioni di essa (membrane, citoscheletro, liposomi, respirazione, DNA, RNA, sintesi proteica), di sovrappone un'azione indiretta perché l'ipertermia aumenta l'uptake del farmaco ed impedisce la formazione di complessi farmaco-proteine, aumentandone l'effettiva disponibilità terapeutica, mentre al tempo stesso taluni farmaci eliminano i fenomeni di termoresistenza espressa da cloni cellulari neoplastici e riducono l'energia di attivazione necessaria per l'effetto ipertermico. Ovviamente non tutti i farmaci si comportano in maniera identica, molti di essi sono in grado di produrre un effetto sinergico quanto associati all'ipertermia⁷⁹ con il timing e le sequenze descritte nel paragrafo seguente.

Un ulteriore successo della perfusione isolata di arto si è registrato con la realizzazione della perfusione trimodale, che prevede l'utilizzazione in associazione all'ipertermia ed ai farmaci antiblastici, dello human recombinant tumor necrosis factor alfa (TNF alfa). La sua azione si estrinseca per citotossicità diretta sulle cellule neoplastiche, sinergistica con l'ipertermia e con alcuni antiblastici, primo fra tutti il Melphalan, per tossicità a carico dell'endotelio vascolare dei tumori, anch'essa incrementata dalle citate associazioni terapeutiche e per attivazione della risposta immune specifica e non come sembra dimostrato da evidenze sperimentali. Le prime esperienze con la perfusione trimodale, che prevedeva anche l'associazione dell'interferon gamma, nella pratica clinica sono state rese note nel 1992⁸⁰. Peraltro, l'impiego del TNF alfa in perfusione isolata ha consentito di ovviare alla notevole tossicità della sostanza che ne limita le possibilità di utilizzazione per via sistemica.

Negli anni successivi è stato messo in evidenza con uno studio randomizzato di fase II che l'aggiunta di interferon gamma nella perfusione trimodale non migliora, se non marginalmente, l'effetto antineoplastico, per cui il suo impiego è stato pressoché abbandonato⁷⁷. E soprattutto è stato dimostrato che l'azione del TNF alfa non è dose-dipendente, in quanto si manifesta in misura uguale con 1mg

o con 3-4 mg di dose totale, con gli intuitivi vantaggi che i dosaggi più bassi consentono a livello di tossicità.⁸¹

I risultati più evidenti ottenuti in quegli anni impiegando la perfusione trimodale in uno studio multicentrico condotto su 246 pazienti affetti da sarcomi dei tessuti molli non resecabili degli arti inferiori hanno ottenuto che nel 1998 il TNF alfa venisse approvato e registrato in Europa proprio per il trattamento perfusionale dei sarcomi.⁸²

1.10.2 Tecnica

Il paziente è sempre in anestesia generale. Per gli arti superiori la posizione supina con arto abdotto, avambraccio semiflesso in posizione intermedia tra pronazione e supinazione. Il moncone della spalla deve restare leggermente discosto dal piano del tavolo operatorio. L'incisione è lunga 6-7 cm, parte dal punto di mezzo della clavicola e si prolunga in basso ed all'esterno lungo il solco deltoideo pettorale. Si approfondisce l'incisione, che risparmia la vena cefalica, si divarica il muscolo grande pettorale previo distacco delle sue inserzioni clavicolari e sternali alte, si seziona il tendine del piccolo pettorale e si preparano arteria e vena ascellare nella I e II porzione. Si effettua ove indicato, anche alla luce di esami istologici estemporanei, la linfectomia ascellare con tecnica usuale, si legano in continuità e spesso temporaneamente i vasi toraco-dorsali e mammari per ridurre al minimo il leakage tra circuito di perfusione e circolazione sistemica. Il paziente viene eparinizzato (200 UI/kg) e dopo 2-3 minuti il flusso nei vasi ascellari viene bloccato con fettucce di garza vaselinata e, previa incisione trasversale dell'arteria e della vena, vengono inserite le cannule il cui diametro varia a seconda del diametro dei vasi. Le due sonde si raccordano quindi col circuito extracorporeo, composto da una pompa, un ossigenatore ed uno scambiatore di calore, previamente riempito con Ringer lattato che serve a diluire, a circuito ancora fermo, il sangue che si lascia defluire dalla cannula venosa.

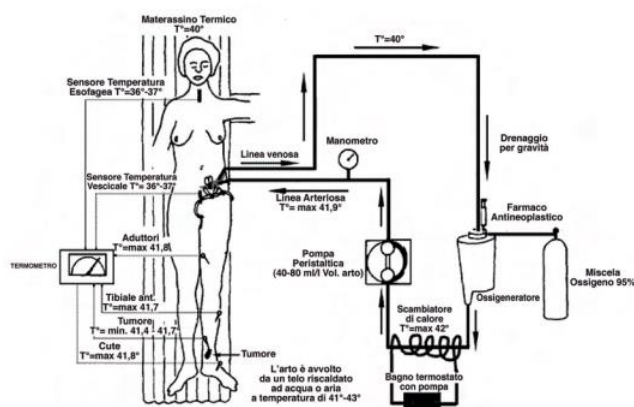


Figura 23: Rappresentazione schematica circolazione extracorporea in ILP (Musculokeletal Cancer Surgery, 2001)

La circolazione extracorporea ha inizio con un flusso minimo (30 ml/l di volume dell'arto) che viene gradualmente aumentato fino a raggiungere l'equilibrio con il ritorno venoso che deve assicurare un livello costante nell'ossigenazione. Si applica alla radice dell'arto un tourniquet mantenuto in posizione da un chiodo di Steinman infisso nel ventre del muscolo trapezio con lo scopo di ridurre al minimo il leakage dei farmaci o di prodotti di disgregazione del tumore nella circolazione sistemica, leakage che viene costantemente monitorato mediante un'iniezione di sieroalbumina umana radiomarcata nel circuito di perfusione e rilevazione della radioattività sistemica con count detector fissato in corrispondenza dell'ala cardiaca, all'estremità distale del corpo sternale. Si predispone il monitoraggio delle temperature per mezzo di termocoppie inserite in corrispondenza del circuito arterioso, della cute e dei muscoli dell'arto, e nello spessore delle localizzazioni neoplastiche, tutte debitamente collegate ad un lettore poligrafico automatico, si aumenta la temperatura nel circuito fino a 42.5°C e, con valori di 41-41.5°C nell'arto perfuso, si riduce a 42°C la temperatura del circuito e si iniettano nella linea arteriosa i farmaci antitumorali. È di grande importanza monitorare l'ECG, la pressione venosa centrale (PVC), le temperature, i flussi di perfusione e la diuresi, oltre al leakage come già accennato. Per tutta la durata del trattamento l'arto perfuso rimane avvolto in un "lenzuoletto" nel quale circola acqua termostata, con il duplice scopo di evitare

fenomeni di termodispersione e di agevolare il riscaldamento di eventuali noduli cutanei, ad esempio di melanoma.

Al termine della perfusione il circuito si “lava” con soluzione fisiologica e poi con destrano a basso peso molecolare prima di rimuovere il tourniquet e le cannule vascolari e di procedere, previa verifica dei flussi, alla chiusura delle incisioni venosa ed arteriosa con sutura continua in polipropilene rispettivamente 00000 e 0000. Si neutralizza l’eventuale eccesso di eparina mediante somministrazione sistemica di portamina solfato, si posiziona un drenaggio ad uscita indipendente in aspirazione, si sutura il muscolo grande pettorale con la sua aponeurosi mentre resta sezionato il tendine del piccolo pettorale, e si chiudono come di consueto i piani tegumentali. Per tutta la durata dell’intervento, e poi nei giorni successivi, il paziente viene mantenuto a diuresi forzata mediante infusione di una soluzione di mannitolo 18% con alcalinizzazione delle urine e con il necessario supporto idroelettrolitico al fine di evitare il rischio di insufficienza renale provocata dall’eventuale precipitazione di ematina acida nei tubuli, dovuta all’aumento di mioglobina circolante prodotta per effetto della perfusione.

Per l’arto inferiore tutto si svolge in maniera sovrapponibile. Cambia naturalmente l’approccio chirurgico. Il paziente è in posizione supina con il bacino leggermente rialzato per consentire l’agevole sistemazione del tourniquet, che viene trattenuto in situ grazie ad un chiodo di Steinman infisso nella spina iliaca antero-superiore. L’incisione è iliaca, omolaterale all’arto da perfondere, e parte 1 cm a monte della spina iliaca antero-superiore per arrivare, con lieve concavità supero-mediale, in corrispondenza del tubercolo del pube. Si approfondisce l’incisione sezionando i muscoli piccolo obliquo e trasverso e si scolla il sacco peritoneale, al quale deve restare adeso l’uretere, fino ad esporre i vasi iliaci comuni, interni ed esterni, procedendo alla legatura dei vasi epigastrici inferiori e circonflessi iliaci superficiali e profondi. Nel corso di queste manovre si effettua, qualora si tratti di melanoma, la linfectomia iliaca otturatoria e retrocrurale con l’intento di ottenere una più precisa stadiazione e di evitare la necessità di ulteriori futuri interventi nella stessa sede. Si blocca a questo punto il flusso nei vasi iliaci comuni ed ipogastrici e, previa incisione trasversale della

parete anteriore, si incannulano arteria e vena iliaca esterna per procedere poi come descritto per l'arto superiore. Da notare che l'utilizzazione dei vasi iliaci esterni è riservata al melanoma, anche perché rende possibile la perfusione di gran parte della regione inguino-femorale. La linfektomia in quest'ultima sede, ove indicata, si pratica alla fine del trattamento perfusionale.

La tecnica è sostanzialmente identica per la perfusione trimodale: le variazioni riguardano la temperatura dell'arto, che non deve mai superare i 41.5°C ed il timing della somministrazione dei farmaci. In realtà esistono pareri discorsi circa la temperatura, che secondo Eggermont, ad esempio, non dovrebbe superare i 40°C, ma sta di fatto che il massimo sinergismo si realizza a partire da 41°C e che i fenomeni tossici rilevati a livello dell'arto perfuso si verificano al di sopra dei 41.5°C, per cui è questa la temperatura che non deve essere superata per tutta la durata della perfusione. Le variazioni nel timing consistono nella iniezione lenta del TNF alfa nella linea arteriosa del circuito al tempo zero, con una temperatura di 41°C; segue dopo 30 minuti l'iniezione del melphalan e la perfusione continua per altri 60 minuti prima di effettuare il lavaggio del circuito. È di estrema importanza il monitoraggio del leakage, che per evitare la tossicità sistemica del TNF alfa non dovrebbe andare oltre il 5% e che per valori del 10% rende necessaria l'interruzione del trattamento.

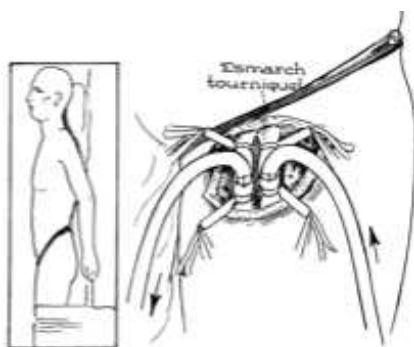


Figura 24: Rappresentazione schematica di accesso vascolare femorale in ILP dell'arto inferiore (Musculoskeletal Cancer Surgery, 2001)

Figura 25: Foto di accesso vascolare ascellare in ILP dell'arto superiore

1.10.3 Patologie bersaglio: melanomi

I melanomi costituiscono ancora, limitatamente agli arti, la principale indicazione alla perfusione ipertermica. Deve essere escluso il trattamento adiuvante, cioè dopo escissione del tumore primitivo. Infatti, dopo tutta una serie di risultati controversi, uno studio prospettico randomizzato multicentrico, condotto sotto l'egida del WHO Melanoma Programme, dell'EORTC Melanoma Group e del North American Perfusion Group, non ha messo in evidenza alcun vantaggio, in termini di metastasi a distanza e sopravvivenza nel gruppo sottoposto a perfusione rispetto a quello trattato con la sola escissione ampia, con o senza linfectomia adiuvante, essendo il solo impatto limitato ad una riduzione della velocità di progressione locoregionale⁸².

In pratica, l'indicazione principale alla perfusione è costituita dalla presenza di metastasi in transito, specialmente se in numero elevato, anche in presenza di metastasi microscopiche o macroscopiche limitate ai linfonodi regionali.

In un passato anche recente la letteratura sui melanomi degli arti ha sempre fatto riferimento alla classificazione del MD Anderson, che colloca le metastasi in transito allo Stadio IIIA, quelle ai linfonodi regionali allo Stadio IIIB e l'associazione delle due allo Stadio IIIAB. Ciò è per esprimersi uniformemente e per effettuare comparazioni affidabili dei risultati ottenuti; oggi questo sistema di stadiazione, almeno limitatamente alla fase di diffusione locoregionale e quindi alle indicazioni al trattamento perfusionale, corrisponde alla nuova stesura del TNM, che include anch'essa dello Stadio III le indicazioni suddette.

La perfusione nel melanoma degli arti è stata diffusamente impiegata a temperature variabili dalla normotermia all'ipertermia vera.

In realtà la percentuale delle risposte è praticamente raddoppiata impiegando ipertermia vera, senza superare comunque, per i motivi precedentemente esposti, i 41.8°C. che questa sia la temperatura da applicare resta vero, anche se l'outcome dei pazienti trattati risente pure, e in misura significativa di fattori inerenti la

malattia, in particolare lo stadio e, per uno stesso stadio, il numero di lesioni, le loro dimensioni ed il coinvolgimento linfonodale. Sta di fatto che questi ultimi fattori non possono venire in alcun modo modificati, mentre l'ottimizzazione del trattamento perfusionale, ottenuta con l'ipertermia tra 41.5° e 41.8°, può e deve essere perseguita.

A queste temperature deve associarsi il melphalan, alle dosi di 13 mg/l (l di volume dell'arto) per gli arti superiori e 10 mg/l (l di volume dell'arto) per gli arti inferiori. Il farmaco, come si è accennato, va iniettato nella linea arteriosa del circuito una volta raggiunta la temperatura desiderata e da quel momento la perfusione si protrae per 60 minuti prima di procedere al lavaggio ed alla sutura delle incisioni vascolari.

Queste considerazioni sono anche alla base dell'utilizzazione, nel trattamento perfusionale del melanoma degli arti localmente avanzato, del TNF alfa che possiede tossicità troppo elevata per essere impiegato per via sistemica.

I primi risultati ottenuti^{80,83} hanno suscitato enorme interesse: il dilemma relativo al vantaggio ottenibile anche nei melanomi in fase di diffusione locoregionale con l'associazione del TNF alfa è stato poi oggetto di uno studio randomizzato negli USA che ha prodotto significativi vantaggi terapeutici, anche se limitatamente ai melanomi bulky per dimensioni maggiori di 5 cm o per numero di localizzazioni superiori a 10 (Fraker 2002). Del tutto recentemente è stato sottolineato come il ruolo della perfusione trimodale debba essere riservato, nel trattamento perfusionale del melanoma degli arti, alle lesioni voluminose, sarcoma-like, mentre le piccole metastasi multiple dovrebbero ancora essere oggetto della perfusione ipertermica convenzionale con il solo melphalan, associando il TNF alfa in un trattamento successivo in caso di non risposta o di recidiva⁸⁴, modificando parzialmente le indicazioni poste da Fraker.

1.10.4 Stato dell'arte

Per quanto concerne i melanomi degli arti, i risultati definitivamente acquisiti hanno messo in evidenza che la perfusione, come si è accennato in precedenza, non è ulteriormente indicata in termini adiuvanti in quanto, a fronte dei rischi, anche se non elevati, che essa comporta, produrrebbe solo una riduzione della velocità di progressione locoregionale, senza alcun impatto sulla metastatizzazione a distanza e sulla sopravvivenza. Al contrario sono validati i risultati ottenuti nei confronti del melanoma in fase di diffusione locoregionale, e cioè nello stadio III della più recente classificazione dell'U.I.C.C. corrispondente agli stadi IIIA, IIIB e IIIAB della classificazione del MD Anderson.

In questi stadi di malattia è stata dimostrata l'utilità dell'ipertermia vera nei limiti sopra indicati (41.5° - 41.8°) perché essa produce una percentuale di risposte obiettive che si attesta su valori dell'80% nelle esperienze di Di Filippo, Kroon e Vaglini^{78,85}, mentre con l'ipertermia moderata le risposte obiettive sono intorno al 60% (Jolsson 1983) per ridursi al 49% in normotermia, come è stato riferito da Bulman e collaboratori (1980). Peraltro, su 2996 pazienti valutati, mortalità, necessità di amputazione dell'arto e reliquati funzionali sono stati rispettivamente dell'0.7% e 4.2%. esiste, inoltre, una discrepanza significativa a vantaggio dell'ipertermia vera in termini di risposta completa, che abbiamo visto influire a sua volta sulla sopravvivenza⁷⁸.

I risultati validati a distanza di 5 anni concernono il controllo locoregionale della malattia, che si attesta su valori oscillanti tra il 57% ed il 70% in rapporto alla diffusione del melanoma, e la sopravvivenza a 5 anni, che oscilla dal 45 al 70% sempre in rapporto alla diffusione della malattia, con un follow-up tra 2 e 10 anni.

Bisogna chiedersi, inoltre, se non siano da considerare ormai validati i risultati relativi alla perfusione ipertermica con TNF alfa e melphalan nei melanomi bulky (> 5 cm) e nelle metastasi in transito numerose (> 10): le risposte complete sono state 58% vs il 19% ottenuto con il solo melphalan nello studio randomizzato condotto da Fraker e collaboratori (2002). Come è stato confermato recentemente,

il TNF alfa in perfusione con il melphalan dovrebbe essere impiegato alla dose di 1 mg, essendo ormai validato che dosi maggiori non migliorano i risultati, sempre che la temperatura sia mantenuta tra i 41 e 41.5°C per trarre vantaggio dagli effetti terapeutici sinergici senza incrementare quelli tossici.

Risultati che possono considerarsi ormai validati dalle esperienze più volte riprodotto nella pratica clinica sono stati ottenuti con l'impiego del TNF alfa, dapprima ad alte dosi (3-4 mg) in ipertermia moderata (39-40°C) e successivamente a basse dosi (1 mg) in ipertermia vera (41-41.5°C) in associazione con il melphalan o alla doxorubicina. Recenti lavori relativi al melphalan riportano^{86,87} una frequenza di risposte complete dall'8% al 100%, con necrosi istologicamente provata > 80%, e di risposte globali dal 50% al 100%, con necrosi > 50%, la realizzazione di interventi conservativi in misura oscillante tra 66% ed il 100% con netta prevalenza per valori vicini all'85%; una ripresa locoregionale di malattia che solo per 3/11 Autori supera il 20% per raggiungere il 45% nell'esperienza di Lejeune; una tossicità locale > IV grado dal 7% al 33% nelle prime serie (1993) e per lo più nulla secondo Wieberdink; una tossicità sistemica di III grado, in accordo alla classificazione del WHO compresa tra 0 e 40%. Non sono riportati i dati relativi alla sopravvivenza, che in linea generale non sembra modificata sostanzialmente dal trattamento perfusionale, anche se potrebbe presumersi un miglioramento nei casi di risposta completa ottenuta in assenza di metastasi a distanza.

Anche per l'associazione con la doxorubicina, l'opportunità di impiegare basse dosi di TNF alfa è stata recentemente messa in evidenza da uno studio multicentrico italiano in cui il TNF alfa è stato somministrato a dosi scalari per triplete di pazienti, secondo lo schema di Fibonacci modificato, a partire da 0.5 mg fino alla dose massima di 3.3 mg. Si è così messo in evidenza che gli effetti terapeutici non cambiano aumentando la dose di TNF alfa al di sopra di 1 mg. Però nel corso della perfusione si è mantenuta una temperatura tra 41° e 41.5°C, nell'ipotesi che il sinergismo tra ipertermia e TNF alfa consentisse una stessa risposta tumorale anche limitando le dosi di TNF alfa. Ciò sulla base di risultati sperimentali dai quali era emerso che cellule resistenti al TNF alfa erano invece sensibili all'associazione con ipertermia (Niitsu 1988). L'escissione di eventuali

lesioni residue è stata condotta a termine nel momento di massima regressione del tumore, che solitamente si verifica dopo un periodo di tempo oscillante tra 30 e 60 giorni. Questo studio ha confermato che a perfusione trimodale ottiene, anche utilizzando la doxorubicina e sempre con una temperatura di 41.5°C, i medesimi effetti per dosi di TNF alfa uguali o superiori a 1 mg⁸⁸. In queste condizioni di lavoro la tossicità sistemica, valutata in aderenza ai criteri della WHO, e quella locoregionale secondo Wieberdink, sono state estremamente basse, con un solo caso di tossicità polmonare di IV grado in un paziente trattato con la dose massima (3.3 mg/l). Comunque, è opportuno ribadire ancora una volta la necessità, al fine di evitare fenomeni tossici sistemici, di monitorare costantemente i valori di leakage, utilizzando la metodica già accennata, e ciò qualunque sia la dose di TNF alfa impiegata. La tossicità locoregionale è strettamente correlata sia alla dose di TNF alfa che alla temperatura di perfusione; sta di fatto che in condizioni di ipertermia moderata non si realizza appieno il sinergismo tra temperatura e TNF alfa che trova la sua massima espressione al di sopra di 41°C, per cui è necessario pilotare la temperatura stessa tra 41 e 41.5°C. In questo range di valori è stata ottenuta, in gruppi di pazienti destinati all'amputazione, la conservazione dell'arto nel 77% dei casi con un'incidenza di recidiva locale del 13% e con una tossicità locoregionale di grado II e soltanto casi sporadici di grado III.

1.10.5 Tossicità secondo Wieberdink

La tossicità locale correlata alla HILP viene classicamente descritta e classificata dalla scala di Wieberdink⁸⁹, in ordine crescente di gravità del danno anatomico-funzionale:

Grade I	Nessuna evidenza oggettiva o soggettiva di reazione avversa
Grade II	Lieve eritema e/o edema
Grade III	Considerevole eritema e/o edema con alcune bolle, lievi disturbi della motilità
Grade IV	Epidermolisi estesa e/o danno ai tessuti profondi, disturbi funzionali importanti, a rischio di sindrome compartimentale
Grade V	Potenzialmente necessaria l'amputazione

Tabella 6: Classificazione tossicità locale correlata ad ILP secondo Wieberdink

2 Scopo dello studio

Lo scopo dello studio è quello di valutare in pazienti con metastasi in transito non resecabili l'interazione, in termini di OS, DFS locale e DFS a distanza, tra perfusione ipertermica isolata di arto e terapie sistemiche.

Il trattamento delle metastasi in transito, che quando presenti caratterizzano il tumore con uno stadio clinico III (N1c, N2c, N3c), non prevede per l'estensione di malattia un approccio chirurgico tradizionale ma trova indicazione un approccio multimodale loco-regionale con perfusione.

La ILP è stata usata per molti anni come prima linea di trattamento delle ITM.

Nell'ultimo periodo con l'avvento dei nuovi farmaci per il melanoma, la ILP non è più stata utilizzata, in quanto le nuove terapie sistemiche rappresentano il trattamento di elezione nel melanoma in stadio avanzato; attualmente vi è indicazione sia alla terapia target che all'immunoterapia per gli stadi III e IV.

Riconsiderare il ruolo della ILP in questo contesto terapeutico è fondamentale per una nuova integrazione nelle linee guida di trattamento.

Questo studio vuole dimostrare come la perfusione isolata di arto sia ancora un trattamento valido per il controllo locale della malattia bulky e agisca in maniera sinergica e compatibile con l'immunoterapia sistemica.

3 Materiali e metodi

Questo lavoro è uno studio analitico retrospettivo, basato sull'esperienza monocentrica di perfusioni eseguite presso la AOPD e lo IOV .

Il database è stato strutturato ad hoc , inserendo tutti gli items relativi ai pazienti con melanoma avanzato non resecabile, che hanno effettuato ILP per il trattamento di ITM nell'intervallo temporale che va dal giugno del 1989 al settembre del 2021.

I dati antropometrici ed anamnestici, così come i dati clinico-patologici (indice di Breslow, ulcerazione, status linfonodale, stadio clinico e patologico, status mutazionale, trattamenti medici, follow-up) sono stati estrapolati dalle cartelle cliniche disponibili in formato elettronico.

I pazienti sono stati stratificati in quattro gruppi, tenendo conto dell'iter terapeutico e non tenendo conto della sequenzialità cronologica:

- pazienti che hanno eseguito esclusivamente perfusione (ILP)
- pazienti che hanno eseguito perfusione in associazione all'immunoterapia (ILP + IT)
- pazienti che hanno eseguito perfusione in associazione a chemioterapia/terapia target (ILP + CT/TT)
- paziente che hanno eseguito perfusione in associazione a immunoterapia e chemioterapia/terapia target (ILP + IT + CT/TT)

Trattamenti	Numero pazienti (%)
ILP	99 (45%)
ILP + IT	88 (40%)
ILP + CT/TT	11 (5%)
ILP + IT + CT/TT	22 (10%)

Tabella 7: Stratificazione pazienti a seconda dell'iter terapeutico

La tossicità locale correlata alla perfusione è stata valutata attraverso la scala di Wieberdink e le complicanze chirurgiche tramite la classificazione di Clavien-Dindo.

Lo stadio clinico dei pazienti è stato aggiornato secondo i criteri di classificazione dell'American Joint Committee on Cancer (AJCC) del 2018.⁴⁵

Il performance status a seguito dell'evento clinico è stato definito secondo il sistema Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG).⁹⁰

Le indicazioni per il trattamento e il follow-up tengono conto delle linee guida AIOM per il melanoma (Associazione Italiana Oncologia Medica).⁹¹

La risposta alla terapia locoregionale, definita in termini di risposta completa (CR), risposta parziale (PR), stabilizzazione di malattia (SD) e progressione di malattia (PD), è stata valutata secondo i criteri RECIST 1.1.⁹²

I parametri analizzati per confrontare gli outcome clinici tra i gruppi terapeutici sono: la sopravvivenza globale (OS), la sopravvivenza libera da malattia locale (local DFS) e la sopravvivenza libera da malattia a distanza (distant DFS). La durata del follow-up è stata calcolata a partire dalla data di esecuzione dell'ILP, fino alla data dell'ultimo follow-up clinico disponibile. La OS è stata calcolata dalla data del trattamento ILP alla data del decesso o alla data dell'ultima visita. La DFS locale è stata calcolata dalla data dell'ILP alla data dell'evento clinico, definito come morte o sviluppo di metastasi in transito, o alla data dell'ultima visita. La DFS a distanza è stata calcolata dalla data del trattamento ILP alla data dell'evento clinico o alla data dell'ultima visita.

I dati continui sono stati riassunti come mediana e intervallo interquartile (IQR), mentre i dati categoriali come frequenza assoluta (n) e relativa (%). Le curve di sopravvivenza sono state calcolate utilizzando il metodo Kaplan-Meier e confrontate utilizzando il logrank test. Tutti i test risultavano bilaterali ed un p-value < 0.05 è stato considerato statisticamente significativo. L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il programma R 4.3.⁹³

4 Risultati

L'analisi preliminare ha incluso 220 pazienti, di cui 75 maschi (34%) e 145 femmine (66%), con un'età mediana di 61 anni ed intervallo interquartile di 52-68.

Lo status linfonodale positivo per metastasi da melanoma, dopo linfadenectomia, interessava 126 pazienti (57%), con un numero medio di linfonodi positivi per paziente pari a 3.

Lo status mutazionale di BRAF (V600E) era presente in 21 pazienti, su un totale di 49 sottoposti ad analisi molecolare legata all'indicazione per TT.

Numero totale pazienti	220
Maschi	75 (34%)
Femmine	145 (66%)
Età (anni)	61 (52-68)
Coinvolgimento linfonodale	126/220 (57%)
Numero di linfonodi positivi	3 (1-5)

Tabella 8: Caratteristiche clinico-patologiche pazienti

Per quanto riguarda i dati relativi alla ILP, 62 pazienti (28%) hanno ricevuto perfusione con solo Melphalan, mentre 158 (72%) con TNF alfa e Melphalan. Il tempo medio intercorso tra la diagnosi di melanoma primitivo e la perfusione è stato di 24 mesi.

La procedura è stata eseguita in 209 pazienti (95%) a carico dell'arto inferiore, con accesso vascolare iliaco in 106 pazienti (48%) e femorale nei restanti 103 (47%), i pazienti con ITM dell'arto superiore sono 11 (5%), tutti con accesso chirurgico ascellare.

Numero pazienti sottoposti ad ILP	220
Melphalan	62 (28%)
TNF-Melphalan	158 (72%)

Tempo da primary a ILP, mesi	24 (12-46)
Accesso vascolare:	
ascellare	11 (5%)
femorale	103 (47%)
iliaco	106 (48%)

Tabella 9: Caratteristiche delle ILP effettuate

La tossicità locale conseguente alla perfusione è stata valutata secondo la scala di Wieberdink e con un follow-up a 3 mesi. Episodi di tossicità locale hanno riguardato 86 pazienti, di cui 65 (29.5%) tossicità di II grado, 17 (7.7%) di III grado, 3 (1.4%) tossicità di IV grado ed 1 (0.4%) tossicità di V grado.

Tossicità locale	Numero pazienti (%)
Grado I	134 (61%)
Grado II	65 (29.5%)
Grado III	17 (7.7%)
Grado IV	3 (1.4%)
Grado V	1 (0.4%)

Tabella 10: Caratteristiche delle tossicità locali sviluppate

Episodi di tossicità sistemica si sono verificati, prevalentemente in forma di mielosoppressione (5.4%) e di alopecia (0.4%).

L'analisi della risposta alla perfusione ha evidenziato un tasso di OR del 68% (CR nel 46% dei casi e PR nel 22% dei casi); di PD nel 29% e di SD nel 3%. Da queste analisi sono stati esclusi 23 pazienti persi durante il follow-up clinico.

Risposta alla ILP	Numero pazienti (%)
CR	90 (46%)
PR	43 (22%)
PD	57 (29%)
SD	7 (3%)

Tabella 11: Caratteristiche della risposta all'ILP

Prendendo in esame il follow-up clinico dei pazienti emerge una durata mediana di 24 mesi, complessivamente sono stati registrati 139 decessi, di cui 130 per melanoma, 125 metastasi a distanza e 35 recidive locali (entrambe registrate come evento unico)

La sopravvivenza globale (OS) calcolata a 3 anni è pari al 42% nei soggetti del gruppo ILP, al 60% nei soggetti ILP + IT, al 41% nel gruppo IL + IT + CT/TT, ed infine all'11% nei soggetti del gruppo ILP + CT/TT.

I pazienti del gruppo ILP + IT presentano un OS aumentato in maniera statisticamente significativa rispetto agli altri gruppi.

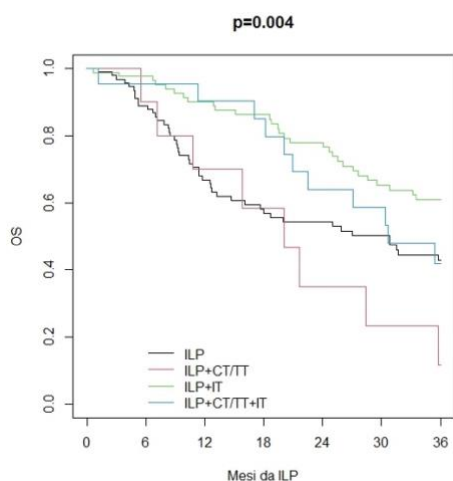


Figura 26: OS a 3 anni per i quattro gruppi definiti

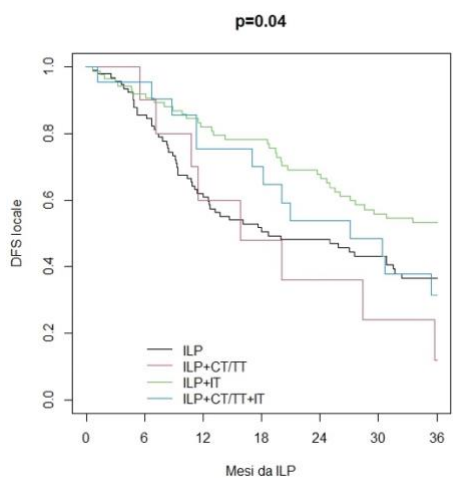


Figura 27: DFS locale a 3 anni per i quattro gruppi definiti

La DFS locale calcolata a 3 anni è pari al 36% nel gruppo ILP, al 53% nel gruppo ILP+ IT, al 41% nel gruppo ILP + IT + CT/TT, infine del 12% nel gruppo ILP + CT/TT.

Anche in termini di DFS locale si osserva un aumento statisticamente significativo nei pazienti del gruppo ILP + IT, rispetto agli altri gruppi.

In termini di DFS a distanza si osserva una differenza tra gruppi di trattamento, ma non statisticamente significativa. Nel follow-up stabilito a 3 anni si osserva un DFS a distanza del 33% nel gruppo ILP, del 35% nel gruppo IL + IT, del 28% nel gruppo ILP + IT + CT/TT, ed in ultima analisi dello 0% nel gruppo ILP + CT/TT.

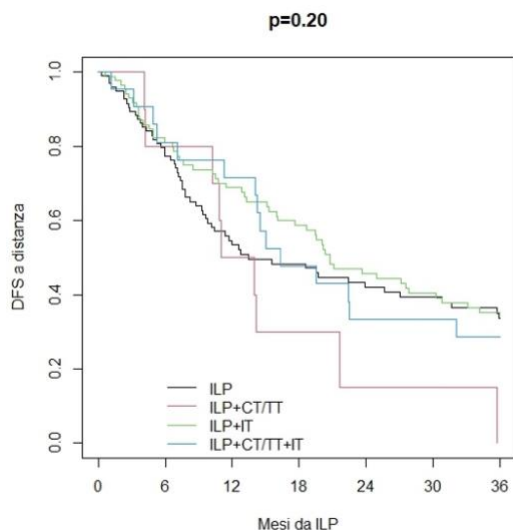


Figura 28: DFS a distanza a 3 anni per i quattro gruppi definiti

5 Discussione e conclusioni

Analizzando la risposta locale alla terapia, osserviamo come i pazienti del gruppo solo ILP presentano una OR dell'83%, con una CR del 52%, in linea con i dati della letteratura.⁹⁴

Studio	OR (%)	CR (%)
Belgrano et al. (2019)	81	47
Madu et al. (2017)	83	45
Deerose et al. (2015)	86	65
Hoekstra et al. (2014)	90	45
Olofsson et al. (2013)	85	65
Paulsen et al. (2014)	85	42
Rossi et al. (2010)	90	51
Deerose et al. (2012)	89	61
Aloia et al (2005)	88	57

Tabella 12: Letteratura in ambito di risposta locale ad ILP

Osserviamo che i pazienti del gruppo ILP + IT eseguita con intento adiuvante presentano una OR del 77.6% ed una CR del 48.7%, paragonabile in termini di risposta locale al gruppo che effettua solo ILP anche se lievemente inferiore.

Gruppo	OR (%)	CR (%)
ILP	83	52
ILP + IT (adiuvante)	77.6	48.7

Tabella 13: Confronto in termini di risposta locale tra solo ILP e ILP + IT

A livello di risposta locale l'associazione della ILP con la IT è sovrapponibile alla sola ILP.

Valutando i risultati in termini di tossicità locale emerge come i nostri dati siano in linea con la letteratura, con una percentuale di pazienti che sviluppa tossicità di grado III o maggiore pari al 9.5%.⁹⁴

Studio	Grado Wieberdink > III (%)
Belgrano et al. (2019)	30
Madu et al. (2017)	2.2
Deerose et al. (2015)	25
Hoekstra et al. (2014)	37
Olofsson et al. (2013)	39
Paulsen et al. (2014)	14
Rossi et al. (2010)	6.8
Deerose et al. (2012)	26.5
Aloia et al (2005)	/

Tabella 14: Letteratura in ambito di tossicità da ILP

Concentrandoci sugli outcome clinici emerge come il gruppo solo ILP presenta un OS a 3 anni del 42% e una DFS locale a 3 anni del 36%; mentre il gruppo ILP + IT presenta un OS a 3 anni del 60% e una DFS locale a 3 anni del 53%.

Si osserva quindi, a fronte di una apparente lieve riduzione della risposta locale, un aumento statisticamente significativo in termini di OS ($p = 0.004$) e DFS locale ($p = 0.04$), calcolate con un follow-up di 3 anni.

L'analisi comparativa in termini di OS per quanto concerne il gruppo solo ILP, ha prodotto risultati compatibili con la letteratura e che ci collocano nel rank tra le migliori esperienze.⁹⁴

Studio	OS (%)	Durata follow-up
Belgrano et al. (2019)	37	5 anni
Madu et al. (2017)	/	
Deerose et al. (2015)	56	3 anni

Hoekstra et al. (2014)	/	
Olofsson et al. (2013)	26	5 anni
Paulsen et al. (2014)	31	5 anni
Rossi et al (2010)	28.5	5 anni
Deerose et al. (2012)	40	3 anni
Aloia et al (2005)	54	3 anni

Tabella 15: Letteratura in ambito di OS in trattamento con ILP

Non è stato possibile confrontare la nostra DFS locale con la letteratura in quanto questo dato spesso non è riportato.

Confrontando il nostro gruppo di pazienti trattati con ILP + IT con gli studi presenti in letteratura che arruolano pazienti con ITM trattati con immunoterapia, emerge che:

- La OR è del 77.6% versus 48.5%
- La CR è del 48.7% versus 25.7%
- L'OS è del 60% versus 64.6%

Studio	OR (%)	CR (%)	OS (%)
Nan Tie ed al. (2020)	54	26	63
Zaremba et al. (2021)	35.5	15.2	54
Holmberg et al. (2022)	56	36	77

Tabella 16: Letteratura in ambito di ITM trattate con ICI

Quest'ultima analisi ribadisce che la ILP associata all'immunoterapia dà risultati sovrapponibili in termini di OS agli ICI, ma con una percentuale di risposta locale maggiore (OR e CR) nel trattamento delle ITM.

Allo stato dell'arte, la presenza di ITM esclude la possibilità di arruolamento in protocolli di studio, qualora questo sia possibile suddetti pazienti vengono inseriti in protocolli insieme con pazienti in stadio IV.

Questo rappresenta un grande limite, poiché dalla maggior parte degli studi clinici pubblicati non si riesce ad estrapolare la percentuale di risposta dei pazienti con ITM all'immunoterapia.

Nell'ultimo periodo sono stati pubblicati tre lavori che considerano la risposta locale all'immunoterapia in pazienti con ITM.⁹⁵⁻⁹⁷

Il dato rilevante viene dal confronto dei risultati di questi tre studi con i nostri trattati con ILP + IT. La nostra impressione è che l'associazione tra ILP e IT determini una migliore risposta locale rispetto alla sola IT, mantenendo una sovrapponibile OS.

Concludendo, la ILP deve avere una nuova ricollocazione in questa era delle terapie sistemiche⁹⁵⁻⁹⁸. Nello specifico da questo nostro studio emerge che il paziente con ITM debba essere trattato con ILP+IT. Questo permette di massimizzare gli effetti dei due trattamenti sia a livello locale che sistemico. Tenendo anche presente che già la ILP è un trattamento multimodale che associa farmaci ed ipertermia.

Dal nostro lavoro si evince come risultino necessari ulteriori studi clinici per la valutazione separata dei pazienti con metastasi in transito, così come per lo studio dei meccanismi che sottendono la potenziale interazione sinergica tra perfusione ed immunoterapia.

Risultati concordi potrebbero suggerire un'integrazione più centrale della ILP nelle linee guida al trattamento delle metastasi in transito da melanoma.

6 Limiti dello studio

Il limite principale dello studio è insito nel carattere retrospettivo dello stesso, che ha reso difficile la ricostruzione di dati anamnestici e di follow-up, soprattutto tenendo conto della casistica trentennale e della disomogeneità del campione.

Con una popolazione di partenza ristretta non è stato possibile stratificare ulteriormente i pazienti in gruppi più omogenei dal punto di vista del trattamento. Ideale, ai fini dell'aumento di numerosità campionaria, sarebbe la progettazione di uno studio multicentrico, che preveda la suddivisione del gruppo generico ILP + IT, in ILP + IFN alfa e ILP + ICI.

Bibliografia

1. Slominski, R. M. *et al.* Melanoma, Melanin, and Melanogenesis: The Yin and Yang Relationship. *Frontiers in Oncology* vol. 12 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.842496> (2022).
2. Rebecca, V. W., Sondak, V. K. & Smalley, K. S. M. A brief history of melanoma: From mummies to mutations. *Melanoma Research* vol. 22 114–122 Preprint at <https://doi.org/10.1097/CMR.0b013e328351fa4d> (2012).
3. Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S. & Jemal, A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* **73**, 17–48 (2023).
4. Ferlay, J. *et al.* Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* **127**, 2893–2917 (2010).
5. Ferlay, J. *et al.* Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer* **149**, 778–789 (2021).
6. Garbe, C. & Leiter, U. Melanoma epidemiology and trends. *Clin Dermatol* **27**, 3–9 (2009).
7. Wu, S., Han, J., Laden, F. & Qureshi, A. A. Long-term ultraviolet flux, other potential risk factors, and skin cancer risk: A cohort Study. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* **23**, 1080–1089 (2014).
8. Whiteman, D. C. *et al.* Anatomic site, sun exposure, and risk of cutaneous melanoma. *Journal of Clinical Oncology* **24**, 3172–3177 (2006).
9. Crocetti, E., Buzzoni, C., Chiarugi, A., Nardini, P. & Pimpinelli, N. Relationship between Latitude and Melanoma in Italy. *ISRN Oncol* **2012**, 1–5 (2012).
10. Fiore, P. Del *et al.* Altitude Effect on Cutaneous Melanoma Epidemiology in the Veneto Region (Northern Italy): A Pilot Study. *Life* **12**, (2022).
11. Ballantine, K. R. *et al.* Small Numbers, Big Challenges: Adolescent and Young Adult Cancer Incidence and Survival in New Zealand. *J Adolesc Young Adult Oncol* **6**, 277–285 (2017).
12. GLOBOCAN. *Melanoma of skin*. <https://gco.iarc.fr/today> (2022).
13. Culp, M. B. B. & Lunsford, N. B. Melanoma among non-hispanic black Americans. *Prev Chronic Dis* **16**, (2019).

14. Kirtane, K. *et al.* Demographic disparities in receipt of care at a comprehensive cancer center. *Cancer Med* (2023) doi:10.1002/cam4.5992.
15. Fahmy, L. M., Schreidah, C. M. & Geskin, L. J. Racial and ethnic disparities in the perception of respect from physicians among skin cancer patients in the United States. *JAAD Int* **11**, 78–82 (2023).
16. Goon, P., Banfield, C., Bello, O. & Levell, N. J. Skin cancers in skin types IV–VI: Does the Fitzpatrick scale give a false sense of security? *Skin Health and Disease* vol. 1 Preprint at <https://doi.org/10.1002/ski2.40> (2021).
17. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* **68**, 394–424 (2018).
18. Forsea, A.-M. Melanoma Epidemiology and Early Detection in Europe: Diversity and Disparities. *Dermatol Pract Concept* e2020033 (2020) doi:10.5826/dpc.1003a33.
19. Dakup, P. P., Greer, A. J. & Gaddameedhi, S. Let’s talk about sex: A biological variable in immune response against melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* **35**, 268–279 (2022).
20. Van Der Kooij, M. K. *et al.* Sex-Based Differences in Treatment with Immune Checkpoint Inhibition and Targeted Therapy for Advanced Melanoma: A Nationwide Cohort Study assessing sex-dependent differences in advanced melanoma patients. *Cancers (Basel)* **13**, 4639 (2021).
21. Buja, A. *et al.* Sex Differences in Cutaneous Melanoma: Incidence, Clinicopathological Profile, Survival, and Costs. *J Womens Health* **31**, 1012–1019 (2022).
22. Chang, Y. M. *et al.* Sun exposure and melanoma risk at different latitudes: A pooled analysis of 5700 cases and 7216 controls. *Int J Epidemiol* **38**, 814–830 (2009).
23. Franken, M. G. *et al.* Trends in survival and costs in metastatic melanoma in the era of novel targeted and immunotherapeutic drugs. *ESMO Open* **6**, (2021).
24. Associazione Italiana Oncologia Medica (AIOM). *I numeri del cancro*. www.medinews.it (2022).
25. IARC. Solar and ultraviolet radiation. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* (1992).

26. World Health Organization. Solar and Ultraviolet Radiation IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans* **55**, (1992).
27. De Ann, L. *et al.* Association between indoor tanning and melanoma in younger men and women. *JAMA Dermatol* **152**, 268–275 (2016).
28. Markovic SN, *et al.* Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin Proc.* (2007).
29. Gandini S, *et al.* Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: Common and atypical naevi. *Eur J Cancer* (2005).
30. Bruno, W. *et al.* Predictors of germline status for hereditary melanoma: 5 years of multi-gene panel testing within the Italian Melanoma Intergroup. *ESMO Open* **7**, (2022).
31. Toussi, A., Mans, N., Welborn, J. & Kiuru, M. Germline mutations predisposing to melanoma. *Journal of Cutaneous Pathology* vol. 47 (2020).
32. Soura, E., Eliades, P. J., Shannon, K., Stratigos, A. J. & Tsao, H. Hereditary melanoma: Update on syndromes and management Emerging melanoma cancer complexes and genetic counseling. *Journal of the American Academy of Dermatology* vol. 74 (2016).
33. Chaidemenos G, S. A. P. M. T. F. *Prevention of malignant melanoma.* (2008).
34. Ferrara, G. & Argenziano, G. The WHO 2018 Classification of Cutaneous Melanocytic Neoplasms: Suggestions From Routine Practice. *Frontiers in Oncology* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.675296> (2021).
35. Elder, D. E., Bastian, B. C., Cree, I. A., Massi, D. & Scolyer, R. A. The 2018 World Health Organization classification of cutaneous, mucosal, and uveal melanoma detailed analysis of 9 distinct subtypes defined by their evolutionary pathway. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* vol. 144 500–522 Preprint at <https://doi.org/10.5858/arpa.2019-0561-RA> (2020).
36. Kim, Y. S., Lee, M. & Chung, Y. J. Two subtypes of cutaneous melanoma with distinct mutational signatures and clinico-genomic characteristics. *Front Genet* **13**, (2022).
37. Yoshioka A, *et al.* The landscape of genetic alterations of UVB-induced skin tumors in DNA repair-deficient mice. *Exp Dermatol.* (2022).

38. Ismail, R. K. *et al.* Long-term survival of patients with advanced melanoma treated with BRAF-MEK inhibitors. *Melanoma Res* **32**, 460–468 (2022).
39. Marchetti, A. & Normanno, N. *Protocollo per l'analisi mutazionale del gene KRAS*.
40. Associazione Italiana Oncologia Medica. *Linee guida MELANOMA*. (2019).
41. Balch CM, *et al.* Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol.* (2001).
42. In 't Hout FE, *et al.* Prognostic importance of the extent of ulceration in patients with clinically localized cutaneous melanoma. *Ann Surg.* (2012).
43. Azimi F, *et al.* Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* (2012).
44. Stucky CC, *et al.* Risk factors associated with local and in-transit recurrence of cutaneous melanoma. *Am J Surg.* (2010).
45. Keung, E. Z. & Gershenwald, J. E. The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. *Expert Review of Anticancer Therapy* vol. 18 775–784 Preprint at <https://doi.org/10.1080/14737140.2018.1489246> (2018).
46. Falk Delgado, A., Zommorodi, S. *et al.* A. Sentinel Lymph Node Biopsy and Complete Lymph Node Dissection for Melanoma. *Current Oncology Reports* vol. 21 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s11912-019-0798-y> (2019).
47. Rossi CR, *et al.* (IMI). Prediction of Non-sentinel Node Status in Patients with Melanoma and Positive Sentinel Node Biopsy: An Italian Melanoma Intergroup (IMI) Study. *Ann Surg Oncol.* (2018).
48. Clavien PA, *et al.* The Clavien-Dindo classification of surgical complications: five-year experience. *Ann Surg.* (2009).
49. Borzillo, V. & Muto, P. Radiotherapy in the treatment of subcutaneous melanoma. *Cancers* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cancers13225859> (2021).
50. Barranco SC, *et al.* The radiation response of human malignant melanoma cells grown in vitro. *Cancer Res.* (1971).

51. Wilson, T. G., Winter, H., Taylor, H. & Herbert, C. *Clinical investigation Treating brain metastases in melanoma: What is the optimal CNS-directed and systemic management? Journal of Radiosurgery and SBRT* vol. 7 (2021).
52. Di Trolio, R., Simeone, E., Di Lorenzo, G., Buonerba, C. & Ascierto, P. A. The use of interferon in melanoma patients: A systematic review. *Cytokine Growth Factor Rev* **26**, 203–212 (2015).
53. Lipson, E. J. & Drake, C. G. Ipilimumab: An anti-CTLA-4 antibody for metastatic melanoma. *Clinical Cancer Research* vol. 17 6958–6962 Preprint at <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1595> (2011).
54. Rohaan, M. W. *et al.* Tumor-Infiltrating Lymphocyte Therapy or Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine* **387**, 2113–2125 (2022).
55. Robert, C. *et al.* Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation. *New England Journal of Medicine* **372**, 320–330 (2015).
56. Weber JS, *et al.* Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomized, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* (2015).
57. Robert, C. *et al.* Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine* **372**, 2521–2532 (2015).
58. Hamid, O. *et al.* Five-year survival outcomes for patients with advanced melanoma treated with pembrolizumab in KEYNOTE-001. *Annals of Oncology* **30**, 582–588 (2019).
59. Bottomley, A. *et al.* Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma (EORTC 1325-MG/KEYNOTE-054): health-related quality-of-life results from a double-blind, randomized, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* **22**, 655–664 (2021).
60. Seymour, L. *et al.* iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *The Lancet Oncology* vol. 18 e143–e152 Preprint at [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30074-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30074-8) (2017).
61. Wolchok, J. D. *et al.* Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine* **369**, 122–133 (2013).
62. Wolchok, J. D. *et al.* Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine* **377**, 1345–1356 (2017).

63. Larkin, J. *et al.* Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine* **381**, 1535–1546 (2019).
64. Hogg, D. *et al.* Canadian cohort expanded-access program of nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *Current Oncology* **27**, 204–214 (2020).
65. Weber, J. *et al.* Neoadjuvant immunotherapy with combined ipilimumab and nivolumab in patients with melanoma with primary or in transit disease. *British Journal of Dermatology* **183**, 559–563 (2020).
66. Hodi, F. S. *et al.* Safety and efficacy of combination nivolumab plus ipilimumab in patients with advanced melanoma: results from a North American expanded access program (CheckMate 218). *Melanoma Res* **31**, 67–75 (2021).
67. Friedman, C. F. *et al.* Ipilimumab alone or in combination with nivolumab in patients with advanced melanoma who have progressed or relapsed on PD-1 blockade: Clinical outcomes and translational biomarker analyses. *J Immunother Cancer* **10**, (2022).
68. Hughes, T., Klairmont, M., Sharfman, W. H. & Kaufman, H. L. Interleukin-2, Ipilimumab, and Anti-PD-1: clinical management and the evolving role of immunotherapy for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Cancer Biology and Therapy* vol. 22 513–526 Preprint at <https://doi.org/10.1080/15384047.2015.1095401> (2021).
69. Robert, C. *et al.* Five-Year Outcomes with Dabrafenib plus Trametinib in Metastatic Melanoma. *New England Journal of Medicine* **381**, 626–636 (2019).
70. Luke, J. J., Flaherty, K. T., Ribas, A. & Long, G. V. Targeted agents and immunotherapies: Optimizing outcomes in melanoma. *Nature Reviews Clinical Oncology* vol. 14 463–482 Preprint at <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.43> (2017).
71. Creech, O., Krementz, E. T., Ryan, R. F. & Winblad, J. N. *Chemotherapy of Cancer: *Regional Perfusion Utilizing an Extracorporeal Circuit.*
72. Cavaliere R, *et al.* Selective heat sensitivity of cancer cells. Biochemical and clinical studies. *Cancer* (1967).
73. Stehlin JS Jr. Hyperthermic perfusion with chemotherapy for cancers of the extremities. *Surg Gynecol Obstet.* (1969).
74. Klaase JM, *et al.* Limb recurrence-free interval and survival in patients with recurrent melanoma of the extremities treated with normothermic isolated perfusion. *J Am Coll Surg.* (1994).

75. Rosin RD, *et al.* Isolated limb perfusion for malignant melanoma. *Rosin RD, Westbury G.* (1980).
76. Lejeune FJ, *et al.* Objective regression of unexcised melanoma in-transit metastases after hyperthermic isolation perfusion of the limbs with melphalan. *Recent Results Cancer Research* (1983).
77. Liénard D, *et al.* Isolated limb perfusion with tumour necrosis factor-alpha and melphalan with or without interferon-gamma for the treatment of in-transit melanoma metastases: a multicentre randomized phase II study. *Melanoma Res* (1999).
78. Di Filippo, F. *et al.* Prognostic variables in recurrent limb melanoma treated with hyperthermic antitlastic perfusion. *Cancer* **63**, 2551–2561 (1989).
79. Hahn N, *et al.* The effect of a dimenhydrinate combination of the cardiovascular system and cerebral blood circulation in the anaesthetized dog. *Arzneimittelforschung.* (1975).
80. Lienard D, *et al.* High-dose recombinant tumor necrosis factor alpha in combination with interferon gamma and melphalan in isolation perfusion of the limbs for melanoma and sarcoma. *J Clin Oncol.* (1992).
81. Rossi, C. R., Foletto, M., Pilati, P., Mocellin, S. & Lise, M. Isolated limb perfusion in locally advanced cutaneous melanoma. *Semin Oncol* **29**, 400–409 (2002).
82. Schraffordt Koops H, *et al.* Hyperthermic isolated limb perfusion for the treatment of soft tissue sarcomas. *Semin Surg Oncology* (1998).
83. Hill AG, *et al.* Current paediatric perfusion practice in North America. *Perfusion.* (1993).
84. de Wilt JH, *et al.* Isolated hepatic perfusion: experimental evidence and clinical utility. *Surg Clin North Am* (2004).
85. Vaglini M, *et al.* Regional perfusion at high temperature in treatment of stage IIIA-IIIAB melanoma patients. *Tumori* (1983).
86. Eggermont AM, de W. J. ten H. TL. Current uses of isolated limb perfusion in the clinic and a model system for new strategies. *Lancet Oncology* (2003).
87. Rossi CR, *et al.* TNFalpha-based isolated perfusion for limb-threatening soft tissue sarcomas: state of the art and future trends. *J Immunother.* (2003).

88. Rossi CR, *et al.* Soft tissue limb sarcomas: Italian clinical trials with hyperthermic antitlastic perfusion. *Cancer*. (1999).
89. Wieberdink, J. *et al.* *Dosimetry in Isolation Perfusion of the Limbs by Assessment of Perfused Tissue Volume and Grading of Toxic Tissue Reactions*.
90. Azam, F. *et al.* Performance Status Assessment by Using ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) Score for Cancer Patients by Oncology Healthcare Professionals. *Case Rep Oncol* **12**, 728–736 (2019).
91. *Linee guida MELANOMA*. (2019).
92. Eisenhauer, E. A. *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* **45**, 228–247 (2009).
93. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
94. Sevilla-Ortega, L. *et al.* Role of isolated limb perfusion in the era of targeted therapies and immunotherapy in melanoma. A systematic review of the literature. *Cancers* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cancers13215485> (2021).
95. Zaremba, A. *et al.* Clinical characteristics and therapy response in unresectable melanoma patients stage IIIB-IIID with in-transit and satellite metastases. *Eur J Cancer* **152**, 139–154 (2021).
96. Holmberg, C. J., Mattsson, J. & Olofsson Bagge, R. Effects of the Introduction of Modern Immunotherapy on the Outcome of Isolated Limb Perfusion for Melanoma In-Transit Metastases. *Cancers (Basel)* **15**, (2023).
97. Nan Tie, E. *et al.* Efficacy of immune checkpoint inhibitors for in-transit melanoma. *J Immunother Cancer* **8**, (2020).
98. Holmberg, C. J. *et al.* The efficacy of immune checkpoint blockade for melanoma in-transit with or without nodal metastases – A multicenter cohort study. *Eur J Cancer* **169**, 210–222 (2022).

