

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA
DIPARTIMENTO DI MEDICINA – DIMED

Direttore Prof. Paolo Simioni

UNITÀ OPERATIVA DI CLINICA DERMATOLOGICA

Direttore: Prof. Mauro Salvatore Alessandro Alaibac

TESI DI LAUREA

MELANOMA SARCOMATOIDE: UNO STUDIO
RETROSPETTIVO SULLE CARATTERISTICHE CLINICO-
PATOLOGICHE, IMMUNOISTOCHIMICHE E MOLECOLARI,
CON PARTICOLARE ATTENZIONE ALLA PROGNOSI E AL
TRATTAMENTO.

Relatore: Prof. Mauro Salvatore Alessandro Alaibac

Correlatore: Paolo Del Fiore

Laureando: Carlo Frattina

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

*“Ai miei genitori,
a mio fratello,
a mia nonna”*

INDICE

1 RIASSUNTO	1
2 ABSTRACT.....	3
3 INTRODUZIONE.....	5
3.1 GENERALITÀ	5
3.2 EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO	5
3.2.1 EPIDEMIOLOGIA IN ITALIA.....	6
3.2.2 EPIDEMIOLOGIA IN VENETO	6
3.2.3 FATTORI DI RISCHIO	8
3.3 DIAGNOSI E FATTORI PROGNOSTICI.....	9
3.3.1 FASE DI CRESCITA	10
3.3.2 SPESSORE DI BRESLOW	11
3.3.3 LIVELLO DI CLARK	11
3.3.4 ULCERAZIONE	12
3.3.5 INDICE MITOTICO	12
3.3.6 INFILTRATO LINFOCITARIO.....	14
3.3.7 REGRESSIONE	14
3.3.8 MICROSATELLITOSI ED INVASIONE LINFOVASCOLARE.....	15
3.3.9 CLASSIFICAZIONE MOLECOLARE	16
3.4 STADIAZIONE TNM.....	19
3.4.1 PARAMETRO T	19
3.4.3 PARAMETRO M	19
3.4.4 STADIAZIONE	20
3.5 TERAPIA.....	22
3.5.1 TERAPIA CHIRURGICA E RADIOTERAPIA	22
3.5.2 TRATTAMENTO MEDICO del melanoma: Interferone- α	23
3.5.3 TRATTAMENTO MEDICO del melanoma: Immunoterapia	24
3.5.4 TRATTAMENTO MEDICO del melanoma: Target therapy	24
3.5.5 FOLLOW-UP	25
3.6 RECIDIVA (cutanea/locale, linfonodale/regionale, distante)	26
4.0 MELANOMA SARCOMATOIDE	27
4.1 CARATTERISTICHE ISTOLOGICHE	28
4.2 CARATTERISTICHE DERMATOSCOPICHE.....	29
5 SCOPO DELLO STUDIO.....	30
6 MATERIALI E METODI	31

6.1 DISEGNO DELLO STUDIO	31
6.2 PAZIENTI.....	31
6.3 DIAGNOSI E TRATTAMENTO	32
6.4 RACCOLTA DEI DATI.....	32
6.5 ANALISI STATISTICA.....	33
7 RISULTATI.....	34
7.1 CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI.....	34
7.2 FOLLOW-UP	39
8 DISCUSSIONE	42
9 LIMITI E PUNTI DI FORZA DELLO STUDIO	46
10 CONCLUSIONI.....	47
BIBLIOGRAFIA.....	48
ELENCO DELLE FIGURE	54
ELENCO DELLE TABELLE.....	57

1 RIASSUNTO

Introduzione: Il Melanoma sarcomatoide (MS) è un tipo raro di melanoma privo delle caratteristiche istologiche tipiche del melanoma cutaneo e spesso privo dell'espressione dei classici marcatori melanocitici, tra cui S100, SOX10, Melan-A, HMB45. Tuttavia, un'analisi immunoistochimica approfondita è obbligatoria in questi casi, poiché la maggior parte di essi non esprime HMB45 e Melan-A, ma può conservare l'espressione, almeno focale, di S100, SOX10 e PRAME. La presentazione clinica può essere utile, poiché questo tipo di tumore colpisce più spesso i maschi anziani e si manifesta sulla pelle esposta al sole della testa e del collo, seguita dagli arti. La diagnosi di MS rappresenta pertanto una sfida seria, che richiede un'analisi istopatologica e immunoistochimica approfondita, poiché questi tumori possono presentare anche piccole aree di melanoma convenzionale. Le insidie legate all'immunoistochimica potrebbero essere risolte dai progressi della tecnologia di sequenziamento del DNA di nuova generazione che danno evidenza di facilitare il riconoscimento di questo raro melanoma aggressivo.

Scopo dello studio: Lo scopo di questo studio è analizzare le caratteristiche cliniche e patologiche del melanoma sarcomatoide in una popolazione di pazienti affetti da questo raro sottotipo e di confrontare prognosi e sopravvivenza di questi pazienti con i dati del melanoma classico presenti in letteratura.

Materiali e metodi: È stato condotto uno studio retrospettivo su 30 pazienti con diagnosi e/o trattamento di MS primario presso l'Istituto Oncologico Veneto e l'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova (Clinica Dermatologica UNIPD) dal 2009 al 2023. I dati sono stati raccolti dai referti di visite programmate, referti di interventi chirurgici, esami istologici. Un'attenta ricerca è stata condotta per correlare le caratteristiche clinico-patologiche all'immunoistochimica. Sono stati analizzati anche i dati di

follow-up sulle recidive e per i nostri pazienti è stata condotta un'analisi di sopravvivenza.

Risultati: Sono stati inclusi nello studio 30 pazienti, l'età media alla data del trattamento era di 64 anni, la maggior parte dei pazienti erano maschi (60%, n=18) tutti di razza caucasica. Quattordici diagnosi di melanoma sarcomatoide sono state fatte in revisione dei preparati istologici e sei pazienti hanno ricevuto una diagnosi corretta dopo la comparsa della malattia metastatica; le sedi più comuni coinvolte sono la testa, il collo e il tronco. Lo spessore medio di Breslow era di 5,5 mm. Lo stadio clinico più frequente risulta essere lo stadio IV (23,3%), seguito dallo stadio IIC (16,7%), IIB e IIIC (10%), IB (6,7%) e IIIB (3,3%). I dati di follow-up e l'analisi di sopravvivenza in 30 pazienti eleggibili hanno rivelato recidive in 11 di loro e un totale di 9 pazienti (30%) ha presentato una malattia metastatica da melanoma sarcomatoide in un determinato momento durante il periodo di follow-up. L'esame dello stato mutazionale ha rivelato mutazioni BRAF in cinque casi e mutazioni NRAS in un caso

Conclusioni: In conclusione, la diagnosi di MS dovrebbe essere presa in considerazione quando si valuta una neoplasia pleomorfa a cellule fuse associate a un melanoma convenzionale, anche in assenza dell'espressione dei tipici marcatori melanocitari. Studi futuri con un numero maggiore di pazienti saranno fondamentali per confermare le prime indicazioni che emergono da studi monocentrici come il nostro che sottolinea la necessità di una adeguata diagnosi precoce, di uno stretto follow-up clinico del paziente, di una attenta correlazione clinico-patologica e di uno studio genomico aggiuntivo.

2 ABSTRACT

Background: Sarcomatoid melanoma (MS) is a rare type of melanoma lacking the typical histological features of cutaneous melanoma and often lacking the expression of classical melanocytic markers, including S100, SOX10, Melan-A, HMB45. However, a thorough immunohistochemical analysis is mandatory in these cases, as most do not express HMB45 and Melan-A, but may retain at least focal expression of S100, SOX10 and PRAME. Clinical presentation may be helpful, as this type of tumour most often affects older males and occurs on the sun-exposed skin of the head and neck, followed by the limbs. The diagnosis of MS is therefore a serious challenge, requiring in-depth histopathological and immunohistochemical analysis, as these tumours may also present with small areas of conventional melanoma. The pitfalls associated with immunohistochemistry could be solved by advances in next-generation DNA sequencing technology that provide evidence to facilitate the recognition of this rare aggressive melanoma.

Aim of the study: The aim of this study is to analyze the clinical and pathological features of sarcomatoid melanoma in a population of patients with this rare subtype and to compare the prognosis and survival of these patients with data from the literature on classic melanoma.

Materials and methods: A retrospective study was conducted on 30 patients diagnosed and/or treated with primary MS at the Veneto Oncology Institute and at the Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova (UNIPD Dermatology Clinic) from 2009 to 2023. Data were collected from the reports of scheduled examinations, surgery reports, histological examinations. Careful research was conducted to correlate the clinical-pathological features with immunohistochemistry. Follow-up data on recurrences were also analyzed and a survival analysis was conducted for our patients.

Results: 30 patients were included in the study, the mean age at the date of treatment was 64 years, the majority of patients were male (60%, n=18) all of Caucasian race. Fourteen diagnoses of sarcomatoid melanoma were made on review of histological preparations and six patients were correctly diagnosed after the onset of metastatic disease; the most common sites involved were the head, neck and trunk. The mean Breslow thickness was 5.5 mm. The most frequent clinical stage was stage IV (23.3%), followed by stage IIC (16.7%), IIB and IIIC (10%), IB (6.7%) and IIIB (3.3%). Follow-up data and survival analysis in 30 eligible patients revealed recurrences in 11 of them and a total of 9 patients (30%) had metastatic sarcomatoid melanoma disease at some time during the follow-up period. Examination of mutational status revealed BRAF mutations in five cases and NRAS mutations in one case

Conclusions: In conclusion, the diagnosis of MS should be considered when evaluating a pleomorphic spindle cell neoplasm associated with conventional melanoma, even in the absence of the expression of typical melanocytic markers. Future studies with larger numbers of patients will be crucial to confirm the early indications emerging from single-center studies such as ours, which emphasise the need for adequate early diagnosis, close clinical follow-up of the patient, careful clinicopathological correlation and additional genomic study.

3 INTRODUZIONE

3.1 GENERALITÀ

I melanociti sono cellule predisposte alla produzione di melanina. Originano dalla cresta neurale, si localizzano nello strato basale dell'epidermide e trasferiscono la melanina ai cheratinociti mediante i loro processi dendritici.¹

Il melanoma (MM) è un tumore maligno che deriva dai melanociti. Rappresenta solo il 4% dei tumori della pelle, tuttavia, è responsabile dell'80% dei decessi per cancro della pelle. Rappresenta uno dei pochi tumori per i quali né l'incidenza né la mortalità sono in diminuzione nel complesso, tranne che in sottogruppi geografici, di sesso ed età molto limitati.²

3.2 EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

Nell'85% dei casi le nuove diagnosi di melanomi cutanei interessano le popolazioni di Nord America, Europa e Oceania.³

L'incidenza globale del MM invasivo è di circa 287.000 nuovi casi all'anno con 60.000 decessi. I tassi di incidenza più elevati sono attualmente registrati in Australia e Nuova Zelanda, con fino a 70 casi per 100.000 abitanti all'anno mentre, i tassi più bassi, si riscontrano in Asia e Africa.

Fino all'età dei 50 anni, l'incidenza è generalmente più alta nelle donne rispetto agli uomini, dopodiché i tassi più elevati prevalgono negli uomini. Si osservano anche differenze nella distribuzione anatomica in base al sesso, con un maggior numero di lesioni agli arti inferiori nelle donne prima della mezza età e un maggior numero di lesioni alla testa e al collo nei maschi dopo la mezza età.⁴

3.2.1 EPIDEMIOLOGIA IN ITALIA

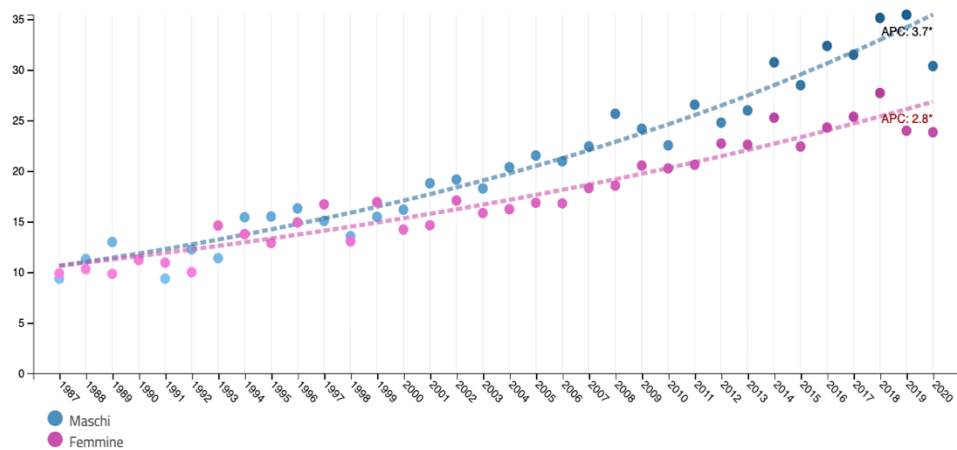
Nel 2023 sono state stimate 12.700 nuove diagnosi di melanoma (7.000 uomini e 5.700 donne). L'incidenza di questa neoplasia è aumentata e alla base di questo incremento si ritrovano una migliore capacità diagnostica ma, purtroppo, anche un aumento dei casi correlati all'uso delle lampade abbronzanti a raggi UV.

I dati sulla prevalenza mostrano 169.900 persone vive in Italia dopo la diagnosi di melanoma della cute (80.100 uomini; 89.800 donne).

Nel 2022 si sono stimati 2.500 decessi per melanoma (1.500 uomini; 1.000 donne) mentre la sopravvivenza netta a 5 anni dalla diagnosi risulta essere 88% negli uomini e 91% nelle donne.³

3.2.2 EPIDEMIOLOGIA IN VENETO

Nel 2020 in Veneto sono stati registrati 1456 casi di melanoma (789 maschi; 667 femmine). In tale periodo il melanoma risultava essere il 4.9% di tutti i tumori diagnosticati in Veneto, rappresentando la sesta neoplasia più frequente in entrambi i sessi.



* p<=0,05.

Figura 1: Trend temporale del tasso di incidenza dal 1987 al 2019. Tasso standardizzato per 100,000 abitanti, popolazione Europa 2013. (Adattamento da https://gecoopendata.registrotumoriveneto.it/incidenza.php?sede=melanoma_cutaneo&codSede=C43-C43.9)

Nell'anno 2020, stratificando la popolazione per fasce d'età, si nota che al di sotto dei 49 anni il melanoma è al terzo posto per frequenza in entrambi i sessi

(324 casi/anno, 10.6%). Considerando separatamente i due sessi, nelle femmine rappresenta la terza neoplasia per frequenza (189 casi/anno, 9.5%) mentre, nei maschi, occupa il secondo posto per frequenza (135 casi/anno, 12.6%) (Figura 2).

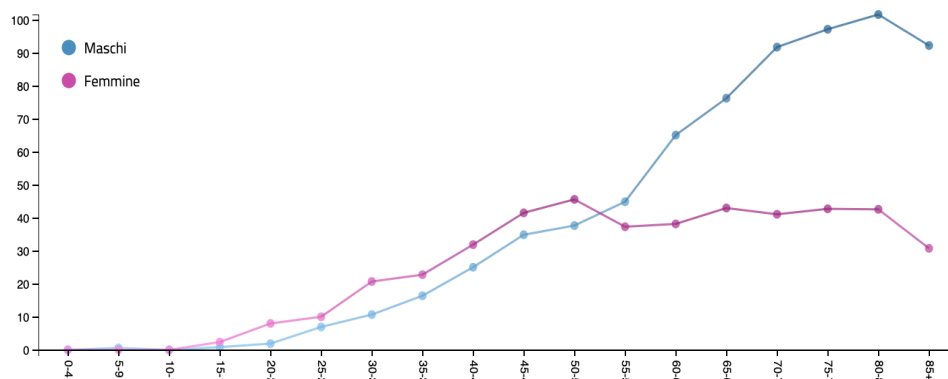


Figura 2: Tassi di incidenza per sesso e classi d'età. Tasso per 100,000 ab. Anni 2018-2020. (adattamento da https://gecoopendata.registrotumoriveneto.it/incidenza.php?sede=melanoma_cutaneo&codSede=C43-C43.9)

Il rischio cumulativo in Veneto è 1:33 negli uomini e 1:47 nelle donne.

L'ISTAT, nel 2021 in Italia, riporta 174.030 decessi a causa dei tumori, di cui 2.122 causati da melanoma maligno che rappresentano circa il 1,21% dei decessi totali per tumore. ⁴

I decessi per tumori maligni lo stesso anno in Veneto sono stati 12.819 (6.923 maschi e 5.896 femmine) di cui 177 causati dal melanoma maligno, l'1,38% quindi dei decessi totali per tumore. Di questi 118 erano maschi (66.7%) mentre 59 femmine (33.3%).

La sopravvivenza relativa per fasce di età riportata dal Registro Tumori Veneto, nel periodo 2014-2016, mostra nei maschi una sopravvivenza ad 1 anno del 99.3% (15-49), del 98.5% (50-69), 93.7% (70+) mentre, nelle femmine, del 99.4% (15-49), del 98.9% (50-69) e del 93% (70+). Nella medesima analisi viene riportata una sopravvivenza maschile a 5 anni del 95.6% (15-49), del 93.2% (50-69), 80.5% (70+) mentre, nelle femmine, del 97.5% (15-49), del 94.9% (50-69), 79.6% (70+).

La sopravvivenza relativa a 5 anni per le principali sedi tumorali vede, nel caso del melanoma cutaneo, una sopravvivenza maschile del 89.9% e una

femminile del 92.6%. Il melanoma cutaneo occupa quindi il quarto posto nei maschi mentre il secondo nelle femmine per sopravvivenza a 5 anni rispetto le altre sedi tumorali.³

3.2.3 FATTORI DI RISCHIO

L'american Cancer Society ha stilato una lista di fattori di rischio per il melanoma. Tra questi, spicca l'esposizione solare soprattutto nei casi di esposizione intermittente associata a scottature poiché si correla ad un rischio maggiore di sviluppo di melanoma rispetto alle esposizioni croniche e continue. Inoltre, la localizzazione stessa può comportare differenti caratteristiche nel melanoma. Le aree più esposte ai raggi UV, soprattutto durante l'infanzia, sono il tronco e le gambe e, secondo alcune ricerche, i melanomi in queste zone presentano caratteristiche differenti rispetto a quelli che nascono su viso, collo e braccia, dove l'esposizione è più frequente.

Diversi da questi sono i melanomi che si sviluppano su zone dove l'esposizione solare è scarsa o quasi nulla, come sul palmo delle mani, sulla pianta dei piedi o sotto le unghie (noti come melanomi acrali lentiginosi) o superfici interne come bocca e vagina (melanomi mucosi).⁵

La classificazione di Fitzpatrick distingue sei fototipi in base alle caratteristiche individuali e alla reazione della pelle all'esposizione ai raggi UV. Il rischio di sviluppare un melanoma è più elevato nei pazienti con fototipo I-II, che indica pelle chiara, capelli biondi o rossi, occhi chiari, lentiggini e tendenza alle scottature solari.⁶ Inoltre, alcuni studi sui migranti, hanno dimostrato che l'infanzia e l'adolescenza sono periodi critici per il futuro sviluppo del MM. I giovani migranti australiani arrivati prima dei 10 anni in climi soleggiati hanno un rischio maggiore di MM rispetto ai migranti più tardivi (> 15 anni o più). Risultati simili sono stati riscontrati per pazienti europei.

I dati demografici hanno dimostrato che, all'interno dei Paesi, l'incidenza e la mortalità del MM tra i bianchi sono correlate inversamente alla latitudine di residenza e alla dose di radiazioni UV, con i tassi più elevati in prossimità dell'equatore.²

Le radiazioni UV si dividono in tre gruppi principali: UVA, UVB e UVC.

I raggi UVA hanno l'energia minore e causano danni cutanei a lungo termine, come le rughe, ma si pensa abbiano anche un ruolo in alcuni tumori della pelle.

I raggi UVB hanno una energia leggermente maggiore dei raggi UVA, riuscendo a danneggiare direttamente il DNA e a causare scottature solari. Si ritiene che causino la maggior parte dei tumori della pelle.

I raggi UVC hanno l'energia più alta ma, fortunatamente, reagiscono con l'ozono atmosferico e non raggiungono il suolo. ⁶

3.3 DIAGNOSI E FATTORI PROGNOSTICI

La diagnosi, dal punto di vista clinico, si fonda sull'osservazione della lesione pigmentata con il dermatoscopio (microscopio da contatto), che permette una valutazione con una modalità non invasiva. Il dermatologo con questo strumento collegato ad una sorgente luminosa, riesce a visualizzare le microstrutture anatomiche di una neoformazione cutanea, localizzate tra l'epidermide e il derma, aumentando l'accuratezza diagnostica. Infatti, l'uso del dermatoscopio, ha aumentato la sensibilità del 10-27% rispetto all'analisi ad occhio nudo. ⁷⁻⁸

Nella diagnosi del melanoma è più che mai importante fare diagnosi precoce poiché è considerata il modo migliore per salvare la vita al paziente. La sfida per il dermatologo consiste nel saper riconoscere con elevata sensibilità lesioni fortemente a rischio per il melanoma ma, anche, con ragionevole specificità per evitare l'escissione inappropriata di lesioni benigne.

I medici determinano la probabilità che una determinata lesione pigmentata possa essere o meno un melanoma attraverso l'applicazione di quattro principi generali: esame analitico, riconoscimento dei modelli, analisi comparativa e analisi dinamica.

L'esame analitico si basa sull'algoritmo ABCDE, ovvero: Asimmetria, Irregolarità dei Bordi, variegatura del Colore, Diametro > 6mm ed Evoluzione. Tuttavia, poiché il cervello umano riconosce gli oggetti

attraverso la costruzione di uno schema cognitivo, o una rappresentazione di questo oggetto, la quale verrà poi riutilizzata per riconoscerlo quando si troverà di nuovo di fronte all'oggetto, risulta più

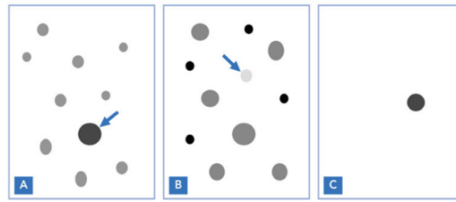


Figura 3: Tre esempi di brutto anatroccolo (adattamento da: <https://www.skincancer.org/international/gli-abcde-del-melanoma/>)

utile analizzare il pattern globale della lesione piuttosto dell'applicazione degli algoritmi (es: ABCDE). L'analisi comparativa interindividuale dei nevi, chiamata anche "segno del brutto anatroccolo" (Figura 3), e l'analisi dinamica delle lesioni permette di aumentare l'accuratezza diagnostica.^{2,9}

L'analisi anatomico-patologica rimane il gold standard per la diagnosi del melanoma e dei tumori cutanei. Qualsiasi lesione sospetta deve essere completamente asportata e inviata all'anatomico patologo. L'esame istologico ha lo scopo di confermare la malignità e l'origine melanocitaria della proliferazione, ma anche di raccogliere importanti informazioni prognostiche.

3.3.1 FASE DI CRESCITA

Le fasi di crescita che caratterizzano un melanoma sono due: radiale o verticale.

La fase di crescita verticale è un fattore prognostico negativo perché rappresenta il momento in cui il melanoma acquisisce la capacità di metastatizzare.¹⁰

3.3.2 SPESSORE DI BRESLOW

Il fattore prognostico più importante nel melanoma primario è lo spessore di Breslow, il quale corrisponde alla misura (in mm) della distanza tra lo strato granulare epidermico sovrastante e il livello di invasione più profondo della lesione primaria.¹¹

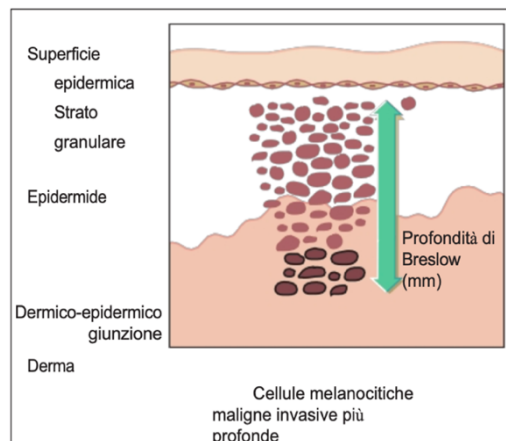


Figura 4: Profondità di Breslow (adattamento da Rook's Textbook of Dermatology, 10th Edition)

3.3.3 LIVELLO DI CLARK

Il livello di Clark, o livello di invasione anatomica, non è attualmente incluso nel sistema di stadiazione AJCC (ottava edizione).¹² Serve a descrivere quanto il tumore sia penetrato in profondità nei vari strati della cute. Maggiore è la profondità e più alta è la possibilità che il tumore sia diffuso ai linfonodi o siti distali.

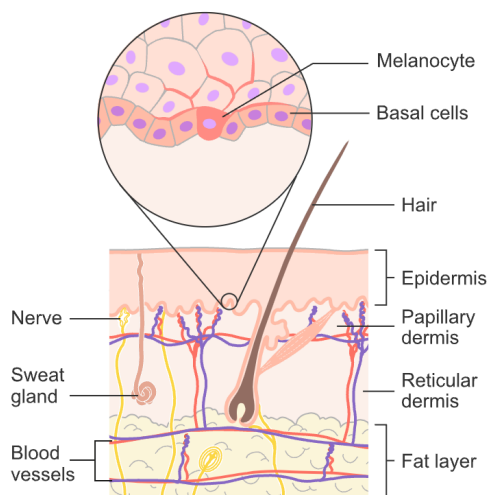


Figura 5: Principali strati della cute (Adattato da: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/melanoma/stages-types/clark-breslow-staging>)

Il livello di Clark prevede l'utilizzo dei numeri romani dallo zero al quattro per determinare quanto il tumore sia penetrato in profondità attraverso i vari strati.¹³

In particolare:

- Livello 1 (melanoma in situ): le cellule del melanoma si trovano solo nello strato esterno della pelle (l'epidermide);
- Livello 2: sono presenti cellule di melanoma nello strato direttamente sotto l'epidermide, noto come derma papillare (derma superficiale);
- Livello 3: le cellule del melanoma toccano lo strato successivo, noto come derma reticolare (derma profondo);
- Livello 4: il melanoma si è diffuso nel derma reticolare;
- Livello 5: melanoma è cresciuto nello strato di grasso sotto la pelle (grasso sottocutaneo).

3.3.4 ULCERAZIONE

L'ulcerazione è da sempre un fattore prognostico sicuro, e ha un ruolo fondamentale nella stadiazione del MM,

L'ulcerazione è definita come l'assenza a tutto spessore di un'epidermide intatta al di sopra di qualsiasi porzione del tumore primario con una reazione dell'ospite associata (caratterizzata da un essudato fibrinoso e infiammatorio acuto) al di sopra del tumore primario. Ai fini prognostici è importante valutare l'estensione dell'ulcerazione, ovvero il diametro della lesione oppure la percentuale di ampiezza rispetto al tumore.¹⁴⁻¹⁵

Nei casi in cui ci sia un dubbio se l'ulcerazione sia iatrogena o traumatica, il tumore deve essere stadato come un tumore primario ulcerato.

Se presente ulcerazione, risulta rilevante a fini prognostici misurarne l'estensione.¹⁶

3.3.5 INDICE MITOTICO

L'indice mitotico è rappresentato dal numero di mitosi/mm² e costituisce una variabile prognostica continua. È un forte predittore indipendente di esito e

dovrebbe essere valutato e registrato in tutti i melanomi primari, comprese le biopsie iniziali e quelle di escissione.

Nella ottava edizione AJCC questo parametro non è più considerato nello staging del tumore, sebbene ne sia comunque fortemente raccomandata l'analisi (Figura 5).¹⁷

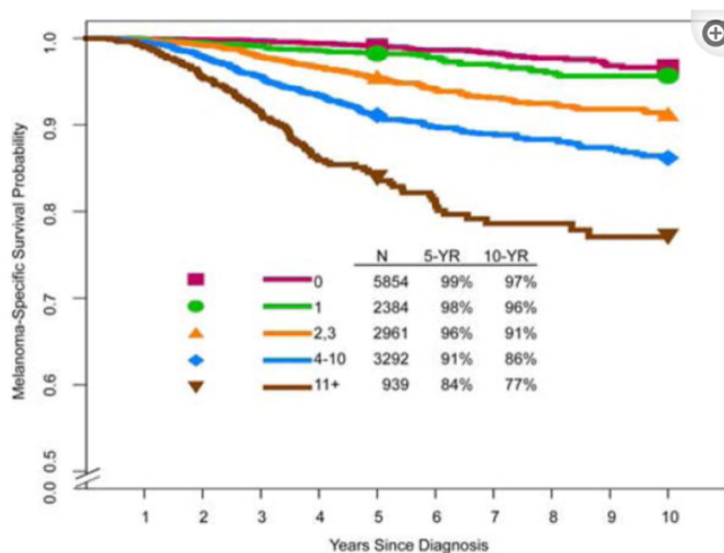


Figura 6: Kaplan-Meier Melanoma-Specific Survival Curves According to Mitotic Rate (Mitoses per mm²) in Patients with Stage I and II Melanoma. From the Eighth Edition International Melanoma Database.

3.3.6 INFILTRATO LINFOCITARIO

Il TIL è la presenza di linfociti che si oppongono direttamente alle cellule tumorali e/o che infiltrano e distruggono i nidi tumorali.

La presenza del TIL è un fattore con importante valore prognostico, infatti, la sua presenza è significativamente associata a una migliore sopravvivenza globale (vantaggio del 14% a 5 anni) rispetto alla sua assenza.¹⁸

Possiamo classificare il TIL in 3 gradi (Figura 6)¹⁷:

- TIL assente: assenza di linfociti o, se presenti, senza infiltrazione del tumore;
- TIL non brisk: infiltrazione focale oppure non in tutta la base del tumore. Possono essere classificati come isolati, multifocali o segmentali;
- TIL brisk: infiltrato linfocitario a livello di tutta la base del tumore oppure che permeano diffusamente il tumore.

Il TIL brisk rappresenta un fattore prognostico indipendente per la sopravvivenza globale dei pazienti con melanoma cutaneo primario.¹⁸

3.3.7 REGRESSIONE

La regressione è definita, a livello clinico, come un'iniziale iperpigmentazione (sottile e spesso inosservata), seguita da una depigmentazione di parte o dell'intera lesione, con aree blu, rosa, bianche o grigie.

Sebbene non siano presenti definizioni standard su come sia la regressione istologica di un melanoma primario, possiamo intenderla come una

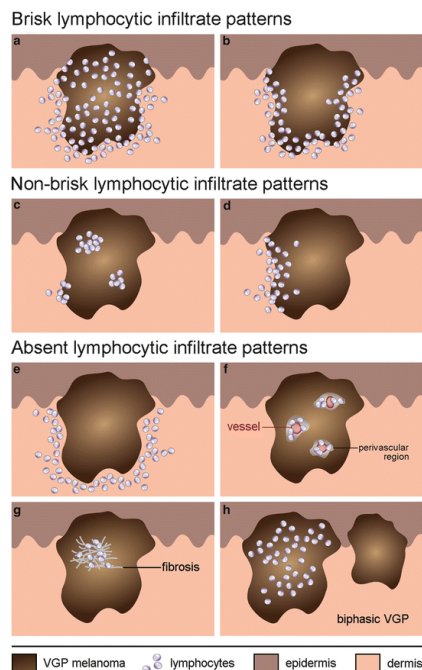


Figura 7: Schematic figure illustrating the different types of TIL infiltrates in vertical growth phase (VGP) melanomas. (a, b) Brisk lymphocytic infiltrate patterns. (c, d) Nonbrisk lymphocytic infiltrate patterns. (e-h) Absent lymphocytic infiltrate patterns. Adattato da *Molecular Diagnostics for Melanoma. Methods in Molecular Biology*, vol 1102. Humana Press, Totowa, NJ.

sostituzione parziale, segmentaria o completa delle cellule del melanoma primario con una risposta variabile dell'ospite. La risposta comprende un infiltrato mononucleare variamente denso, melanofagi e/o fibrosi cutanea accompagnata neovascolarizzazione cutanea, con un'attenuazione epidermica variabile. Tuttavia, la regressione istologica è spesso osservata in assenza di una regressione clinicamente documentata.¹⁹

La regressione nei melanomi primari è stata spesso origine di dibattito rispetto il suo valore prognostico, risultando anche come fattore prognostico negativo perché alterava la misurazione dello spessore e, quindi, la stadiazione. Ad oggi, possiamo considerare la regressione come un fattore prognostico favorevole nei pazienti con melanoma nello stadio I-II AJCC.²⁰

3.3.8 MICROSATELLITOSI ED INVASIONE LINFOVASCOLARE

All'analisi istologica, un microsattellite è definito come una metastasi microscopica cutanea o sottocutanea adiacente o profonda rispetto al melanoma primario.

Più precisamente, un microsattellite è definibile come la presenza di nidi tumorali di diametro > 0,05 mm localizzati nel derma reticolare e/o nel sottocute e distanti almeno 0,3 mm dalla massa principale della neoplasia.²¹ Inoltre, non devono essere separati dal melanoma primitivo da fibrosi o cellularità infiammatoria che altrimenti indicherebbero la presenza di fenomeni di regressione.

Nell'ottava classificazione AJCC la presenza di microsatteliti, anche in assenza di linfonodi clinicamente apprezzabili o di metastasi in transit, classifica la neoplasia in stadio III.¹²

L'invasione linfovaskolare (LVI) è definita come l'invasione microscopica di cellule tumorali dei vasi sanguigni e linfatici e, affinché avvenga questo processo, le cellule tumorali devono seguire alcuni steps del processo di metastasi.²²

La presenza di microsatteliti o di invasione linfovaskolare rappresenta un importante valore prognostico e predittivo sul coinvolgimento linfonodale locale o di secondarismi in transit.¹⁷

3.3.9 CLASSIFICAZIONE MOLECOLARE

I tre oncogeni più frequentemente attivati nel melanoma sono BRAF (40-50%), NRAS (15-28%) e NF1 (14%). Infatti, nel 2015, è stata proposta una classificazione in quattro sottotipi: BRAF mutante, NRAS mutante, NF1 mutante e triplo-Wild Type; la quale è stata poi ampliata nel 2018 dall'OMS (Figura 8).

Le mutazioni della via RAS-RAF-MEK-ERK coprono oltre l'80% dei melanomi primari e conducono verso una attivazione aberrante della via MAPK, la quale regola fenomeni di proliferazione, sopravvivenza e migrazione.^{2,23}

Tra le diverse mutazioni presenti, la maggior parte sono correlate all'esposizione solare, ovvero CSD-related, e si vedono in numero significativamente elevato nei tumori esposti al sole rispetto ai tumori interni, come il mucosale ed uveale (Figura 9 e 10). Queste mutazioni sono somatiche di tipo C>T oppure CC>TT e vengono definite come “mutazioni driver”, ovvero mutazioni che a causa della loro bassa capacità di riparazione del DNA portano ad un conservamento della cellula danneggiata.²⁴⁻²⁵

La mutazione più frequente di BRAF è la V600E e si riscontra solitamente nei pazienti con un alto numero di nevi e nei soggetti con elevata esposizione solare in giovane età. Inoltre, uno studio ha osservato come la prevalenza delle mutazioni di BRAF diminuisca con l'età mentre il numero di mutazioni non-V600E aumenti con l'aumentare dell'età.²⁶

Le mutazioni di NRAS insorgono più frequentemente nel codone 61 sebbene possano coinvolgere anche il codone 12 e 13. Queste mutazioni riguardano melanomi insorti in soggetti più anziani e che presentano un maggiore spessore di Breslow e un maggior numero di mitosi.²⁷

Le mutazioni di c-KIT riguardano l'1-3% dei melanomi, in particolare nei melanomi acrali, nei melanomi mucosali e in alcuni melanomi con elevato CSD. In presenza di questa mutazione è possibile considerare il trattamento con imatinib.

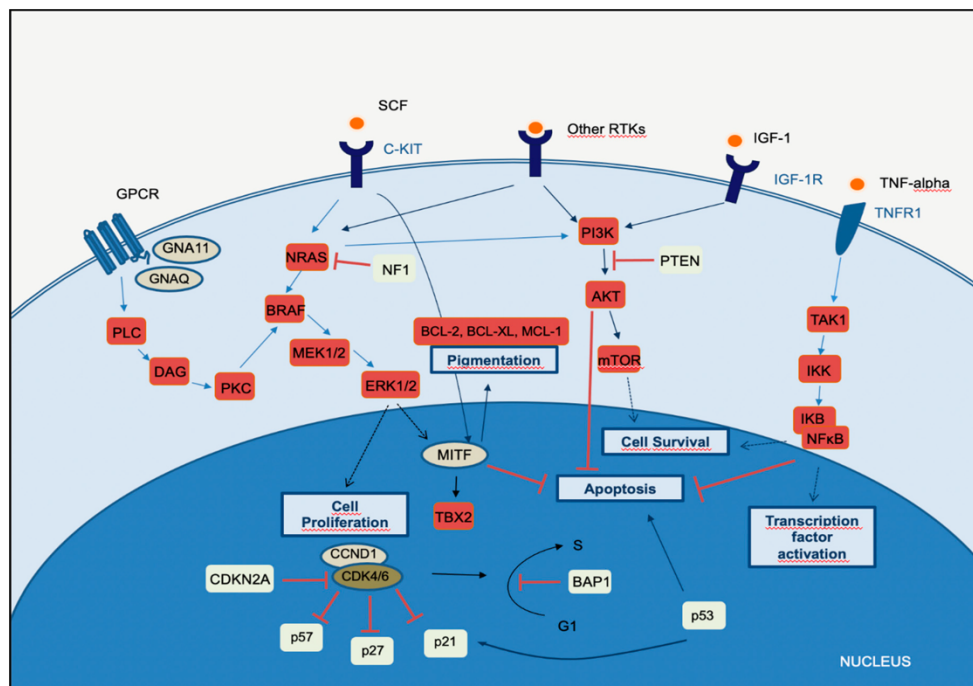


Figura 8: Pathway fondamentali nel melanoma. Teixido C, Castillo P, Martinez-Vila C, Arance A, Alos L. *Molecular Markers and Targets in Melanoma*. *Cells*. 2021; 10(9):2320. <https://doi.org/10.3390/cells10092320>

UV Exposure	Categories	Melanoma Subtype	Key Molecular Genes	
Low UV/CSD	I	Superficial spreading melanoma	BRAFV600 mut CDKN2A mut NRAS mut	TERT mut PTEN mut TP53 mut
High UV/CSD	II	Lentigo maligna melanoma	NRAS mut BRAF ^{non-V600E} mut KIT mut TERT mut	CDKN2A mut PTEN mut TP53 mut
	III	Desmoplastic melanoma	NF1 mut NFKBIE mut	NRAS mut PIK3CA mut
	IV	Spitz melanoma	ALK rearr NTRK1 rearr NTRK3 rearr	CDKN2A mut HRAS mut
Low or no UV/CSD	V	Acral melanoma	KIT mut NRAS or BRAF mut ALK rearr NTRK3 rearr	CDKN2A mut CCND1 amp TERT mut
	VI	Mucosal melanoma	KIT mut NRAS or BRAF mut CDKN2A mut SF3B1 mut	CCND1 amp CDK4 mut MDM2 amp
	VII	Melanoma in congenital nevus	NRAS mut	BRAFV600E mut
	VIII	Melanoma in blue nevus	GNA11 mut GNAQ mut CYSLTR2 mut	BAP1 mut EIFAX mut SF3B1 mut
	IX	Uveal melanoma	GNA11 mut GNAQ mut CYSLTR2 mut PLCB4 mut	BAP1 mut EIFAX mut SF3B1 mut

Abbreviations: amp, amplification; CSD, cumulative sun damage; mut, mutation; rearr, rearrangement.

Figura 9: La classificazione dei melanomi (modificata dalla classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità del 2018). Adattamento da: <https://doi.org/10.3390/cells10092320>

Arising from Skin High CSD	Arising from Skin Low CSD	Arising from Acral Surfaces	Arising from Mucosal Surfaces	Uveal Melanoma
BRAF ^{nonV600E} mut.	APC mut.	ALK rearr.	BRAF mut.	BAP1 mut.
EGFR mut.	BAP1 mut.	BRAF mut.	CCND1 amp.	CYSLTR2 mut.
ERBB2 mut.	BRAFV600E mut.	CCND1 amp.	CDK4 amp.	EIFAX mut.
KIT mut.	CDKN2A mut.	GAB2 amp.	CDKN2A mut.	GNA11 mut.
MAP2K1 mut.	CTNNB1 mut.	HRAS mut.	KIT mut.	GNAQ mut.
MAP3K1 mut.	MAP2K1 mut.	KIT mut.	KRAS mut.	PLCB4 mut.
MET mut.	NRAS mut.	KRAS mut.	MDM2 amp.	SF3B1 mut.
NF1 mut.	PRKAR1A mut.	NF1 mut.	NF1 mut.	
NFKBIE mut.	PRKCA mut.	NRAS mut.	NRAS mut.	
NRAS mut.	PTEN mut.	NTRK3 rearr.	SF3B1 mut.	
PIK3CA mut.	TERT mut.	TERT mut.		
PTEN mut.	TP53 mut.			
PTPN11 mut.				
RAC1 mut.				
TERT mut.				
TP53 mut.				

UV Signature
High TMB

Lack UV signature
Low TMB

Figura 10: Alterazioni genomiche dei sottotipi di melanoma definiti dall'esposizione ai raggi UV. Abbreviazioni: amp, amplificazione; CSD, danno solare cumulativo; rearr, riarrangiamento; TMB, carico mutazionale tumorale; UV, ultravioletto. Adattamento da: <https://doi.org/10.3390/cells10092320>

3.4 STADIAZIONE TNM

L'ottavo sistema di stadiazione del melanoma dell'American Joint Committee on Cancer (AJCC) è stato pubblicato nel 2018, sulla base di un'analisi di oltre 46.000 pazienti con melanoma in stadio I, II, III e 7972 pazienti con melanoma in stadio IV (mantenuti dalla settima edizione).^{2,12}

3.4.1 PARAMETRO T

Il parametro T è indicativo delle caratteristiche del tumore primitivo.

Il parametro Tx viene utilizzato nei tumori dove lo spessore di Breslow e l'ulcerazione non sono valutabili. T0 indica l'assenza di evidenza di tumore primario. Tis è utilizzato per i melanomi in situ, ovvero ancora confinato negli strati superiori della pelle, non avendo ancora sorpassato lo strato granuloso. T1, T2, T3 e T4 indicano un melanoma invasivo classificato in base allo spessore secondo Breslow e alla presenza/assenza di ulcerazione (Figura 9).

3.4.2 PARAMETRO N

Il parametro N definisce il coinvolgimento linfonodale.

La dicitura Nx viene utilizzata quando è impossibile valutare i linfonodi regionali. N0 è utilizzato in assenza di coinvolgimento linfonodale. Mentre, in presenza di coinvolgimento linfonodale, si utilizza N1, N2 e N3 a seconda del numero di linfonodi coinvolti, della presenza di rilevanza clinica e MSI (metastasi in-transit, satelliti e/o microsattellitosi). Le metastasi in-transit si definiscono come metastasi dermiche e/o sottocutanee a distanza > 2cm dal melanoma primitivo, nella regione compresa tra questo ultimo e i linfonodi regionali; d'altra parte, i satelliti sono definiti come metastasi cutanee fino a 2cm dal melanoma primitivo.

3.4.3 PARAMETRO M

Il parametro M valuta le metastasi e, per definizione, queste sono presenti solo nei melanomi di stadio IV.

M0 viene utilizzato in assenza di metastasi mentre, M1 in presenza. In base alle diverse localizzazioni si stratifica in M1a, b, c o d (Figura 11). Inoltre, viene valutato il valore di LDH sierico, che può essere normale o elevato.

3.4.4 STADIAZIONE

Sulla base del TNM (Figura 11) il paziente viene stadiato in maniera clinica e/o patologica (Figura 12). La stadiazione si definisce clinica quando si avvale degli strumenti radiologici per valutare la presenza o l'assenza di metastasi regionali o a distanza. Mentre, si definisce la stadiazione patologica quando si raccolgono informazioni patologiche dei linfonodi regionali dopo biopsia parziale (BLS) o linfadenectomia completa. I pazienti patologici di stadio 0 e IA non richiedono una valutazione patologica dei loro linfonodi.

Classification	Thickness (mm)	Ulceration status/mitoses
T		
Tis	N/A	N/A
T1	<0.8	a: Without ulceration b: With ulceration
T2	1.01–2.00	a: Without ulceration b: With ulceration
T3	2.01–4.00	a: Without ulceration b: With ulceration
T4	>4.00	a: Without ulceration b: With ulceration
N	No. of regional lymph nodes	Nodal metastatic burden
N0	0	N/A
N1	1	a: Clinically occult detected by SLN biopsy b: Clinically detected c: No regional lymph node but presence of in-transit, satellites and/or microsatellite metastasis
N2	2–3	a: Clinically occult detected by SLN biopsy b: At least one clinically detected c: One clinically occult or clinically detected and presence of in-transit, satellites and/or microsatellite metastasis
N3	≥4	a: Clinically occult detected by SLN biopsy b: At least one clinically detected or presence of any number of matted nodes c: Two or more clinically occult or clinically detected and/or presence of any number of matted nodes
M	Site	Serum LDH
M0	No distant metastases	N/A
M1a	Distant skin, subcutaneous or nodal metastases	Normal M1a(0)/elevated M1a(1)
M1b	Lung metastases	Normal M1b(0)/elevated M1b(1)
M1c	Other visceral metastases excluding CNS	Normal M1c(0)/Elevated M1c(1)
M1d	CNS metastases	Normal M1d(0)/Elevated M1d(1)

Figura 11: Categorie TNM per la stadiazione del melanoma cutaneo (adattamento da Rook's Textbook of Dermatology, 10th Edition)

	Clinical staging			Pathological staging			
	T	N	M	T	N	M	
0	Tis	N0	M0	0	Tis	N0	M0
IA	T1a	N0	M0	IA	T1a	N0	M0
IB	T1b	N0	M0	IB	T1b	N0	M0
	T2a	N0	M0		T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0	IIA	T2b	N0	M0
	T3a	N0	M0		T3a	N0	M0
IIB	T3b	N0	M0	IIB	T3b	N0	M0
	T4a	N0	M0		T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0	IIC	T4b	N0	M0
III	Any T	N > N0	M0	IIIA	T1a/b-T2a	N1a/N2a	M0
				IIIB	T0	N1b/N1c	M0
					T1a/b-T2a	N1b/c-N2b	M0
				IIIC	T2b/T3a	N1a-N2b	M0
					T0	N2b, N2c, N3b, N3c	M0
				IIID	T3b-T4a	Any N \geq N1	M0
T4b	N3 a/b/c	M0					
IV	Any T	Any N	M1	IV	Any T	Any N	M1

Figura 12: Staging patologico e clinico (adattamento da Rook's Textbook of Dermatology, 10th Edition)

3.5 TERAPIA

Il trattamento del melanoma dipende dallo stadio clinico al momento della diagnosi. Per gli stadi precoci (Tis, T1a), il trattamento prevede unicamente l'escissione chirurgica con margini liberi. Nei casi con $T > T1a$ all'allargamento si associa la biopsia del linfonodo sentinella (Figura 13).

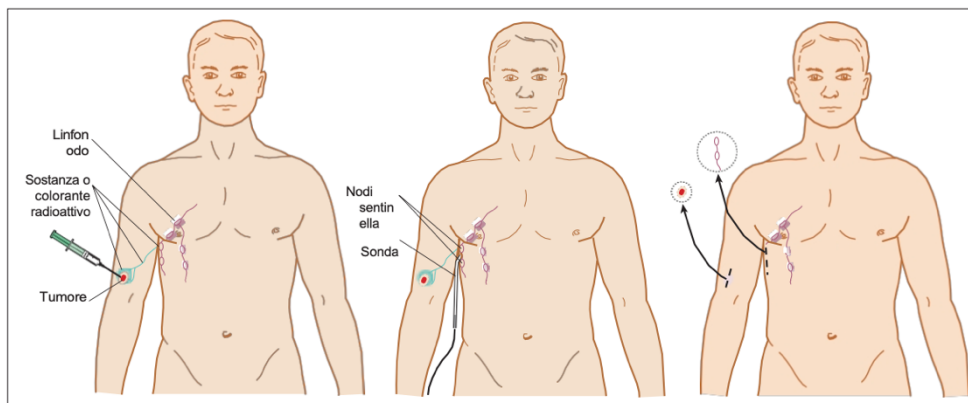


Figura 13: La biopsia del linfonodo sentinella consente di rilevare le micrometastasi del melanoma nei linfonodi regionali. Il tracciante radioattivo e il colorante vengono iniettati per via intradermica nella sede del tumore primario del melanoma e seguono la via di drenaggio linfatico fino al primo linfonodo regionale, o linfonodo sentinella. Intraoperatoriamente, viene utilizzata una sonda per individuare il linfonodo bersaglio, che viene poi esciso chirurgicamente per la valutazione patologica. Per gentile concessione di Hensin Tsao, Skin Cancer Genetics Laboratory/Wellman Center for Photomedicine, Boston, MA, USA.

Nei casi con linfonodo sentinella positivo e casi che giungono all'osservazione in stadio più avanzato (stadio III e IV), si ricorre a terapie adiuvanti specifiche, come la immunoterapia con gli inibitori del checkpoint immunitario e la target therapy.

3.5.1 TERAPIA CHIRURGICA E RADIOTERAPIA

L'escissione chirurgica è il trattamento di scelta per il melanoma diagnosticato precocemente ed è sufficiente a garantire una prognosi eccellente. Il tasso di guarigione con la sola chirurgia per i melanomi sottili (<1,0 mm) è del 98%. Un'iniziale escissione completa con margini liberi associata a una successiva ampia escissione locale (entro 3 mesi dal primo intervento) è essenziale per ridurre le recidive locali e la mortalità specifica per melanoma. Prima del 1970, l'allargamento veniva eseguito con margini di 5 cm. Tuttavia, studi successivi hanno suggerito che margini più stretti

erano sufficienti. Le linee guida più recenti raccomandano margini clinici compresi tra 0,5 e 2 cm, a seconda della profondità dello spessore di Breslow. Le attuali linee guida raccomandano di eseguire la biopsia del linfonodo sentinella (SNLB) per il melanoma dallo stadio T1b in su; l'eccezione a questa regola è rappresentata dal MS, che tende ad avere tassi di positività della SNLB più bassi, rendendo controversa la sua esecuzione in questi casi. Storicamente, i pazienti con una SNLB positiva venivano sottoposti a dissezione linfonodale completa, una pratica che è stata recentemente messa in discussione in quanto sembra garantire solo un leggero miglioramento della sopravvivenza libera da malattia, ma non ha alcun impatto sulla sopravvivenza specifica del melanoma. Inoltre, i pazienti sottoposti a questa procedura spesso sviluppano un linfedema con conseguente compromissione della qualità di vita. Pertanto, la sorveglianza attiva con l'uso di ultrasuoni è ora preferita nei pazienti con positività alla SNLB. La linfadenectomia terapeutica è riservata ai casi di recidiva linfonodale o alla presenza di una malattia linfonodale estesa.

Per i pazienti con metastasi in transito resecabili senza metastasi a distanza, si raccomanda l'escissione chirurgica con margine negativo. Per le metastasi in transito non resecabili, sono indicate le terapie locoregionali (elettrochemioterapia, radioterapia, perfusione ipertermica) e/o quella sistemica (clinical trial, immunoterapia, target therapy o chemioterapia). La radioterapia può essere anche molto utile per le metastasi cerebrali, in particolare per la radiocirurgia stereotassica o la radioterapia del cervello intero (whole brain RT).^{28,18}

3.5.2 TRATTAMENTO MEDICO del melanoma: Interferone- α

L'uso della terapia con interferone alfa a basso dosaggio non dovrebbe essere preso in considerazione alla luce delle nuove terapie esistenti, a meno che non si tratti di melanoma ulcerato e in stadio IIB o IIC, per il quale non sono disponibili terapie adiuvanti di nuova generazione.²⁹

3.5.3 TRATTAMENTO MEDICO del melanoma: Immunoterapia

Nel 2011, l'Ipilimumab, un inibitore dell'antigene 4 associato ai linfociti T citotossici (CTLA-4), è stato approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) per il trattamento del melanoma metastatico. Si tratta del primo tra i farmaci noti come inibitori del checkpoint, che liberano il sistema immunitario e controllano la malignità invertendo la naturale capacità di chiusura del sistema immunitario. Prima di questo farmaco, l'unica terapia approvata per il melanoma metastatico era l'interleuchina-2. Il melanoma cutaneo è un tumore immunogenico, come dimostrano i linfociti che infiltrano il tumore e la regressione, spesso osservabile sia clinicamente che patologicamente. I recenti bersagli dell'immunoterapia includono CTLA-4 e la proteina 1 della morte cellulare programmata (PD-1) e il suo ligando (PD-L1), immunomodulatori espressi sulle cellule T. Questi recettori e i loro ligandi sono in grado di influenzare l'immunoterapia. Questi recettori e i loro ligandi regolano l'esaurimento delle cellule T. La risposta immunitaria dell'ospite al melanoma può essere potenziata bloccando questa via. Gli inibitori di PD-1, Nivolumab e Pembrolizumab, hanno dimostrato tassi di risposta più elevati ed effetti collaterali ridotti rispetto a Ipilimumab. La combinazione di Nivolumab e Ipilimumab si è dimostrata superiore ai singoli farmaci in termini di sopravvivenza libera da progressione. Tuttavia, l'aumento degli effetti avversi con la combinazione di questi due farmaci ne limita l'uso combinato come terapia di prima linea. Esistono numerose prove che suggeriscono una correlazione positiva tra gli effetti collaterali di questi farmaci e la risposta alla malattia.³⁰

3.5.4 TRATTAMENTO MEDICO del melanoma: Target therapy

Lo sviluppo di inibitori orali altamente selettivi della mutazione BRAF-V600E ha rappresentato una svolta significativa. L'uso di un inibitore di BRAF in monoterapia per i pazienti con mutazioni BRAF-V600E e melanoma non resecabile è stato associato a un alto tasso di risposta (circa il 50%) e a un'azione rapida.

Purtroppo, l'efficacia di questo farmaco è stata quasi universalmente associata a recidive entro pochi mesi. La resistenza acquisita al farmaco era dovuta all'attivazione paradossale della via MAPK. Pertanto, per ridurre la resistenza si ricorre ora alla terapia di combinazione con due farmaci che inibiscono rispettivamente BRAF e MEK. La terapia combinata non solo ha aumentato il tasso di risposta, ma ha anche ridotto gli effetti collaterali associati alla monoterapia. La terapia di combinazione approvata comprende Dabrafenib/Trametinib, Vemurafenib/Cobimetinib ed Encorafenib/Binimetinib. La questione se iniziare con una terapia mirata o con l'immunoterapia è una questione importante che è stata ampiamente dibattuta e che potrebbe essere ulteriormente modificata in futuro.

Altri trattamenti terapeutici mirati includono gli inibitori di c-kit, come l'imatinib mesilato, utilizzati nei melanomi mutanti c-kit.³¹

3.5.5 FOLLOW-UP

Il follow-up è di grande importanza nei pazienti affetti da melanoma. Gli obiettivi della sorveglianza dopo il trattamento del melanoma primario sono l'identificazione di recidive loco-regionali potenzialmente curabili, di altri melanomi primari successivi nello stesso paziente e della malattia metastatica a distanza che può beneficiare della terapia sistemica. Si stima che il rischio di sviluppare un nuovo melanoma primario nei 5 anni successivi alla diagnosi iniziale sia 25 volte superiore a quello della popolazione generale. Per questo motivo, tutti i pazienti che hanno avuto un melanoma sono sottoposti non solo a regolari visite dermatologiche, ma anche a esami strumentali eseguiti periodicamente in base allo stadio clinico del melanoma primario. Prima dell'avvento dell'immunoterapia contemporanea e delle terapie mirate, le visite di follow-up avevano l'obiettivo di individuare le recidive loco-regionali che potevano essere potenzialmente curate con la chirurgia. Attualmente, dopo l'avvento dell'immunoterapia sistemica e delle terapie mirate, il paradigma della sorveglianza continua ad evolversi. Non esiste un consenso universale sulla strategia ottimale per la sorveglianza.³²

3.6 RECIDIVA (cutanea/locale, linfonodale/regionale, distante)

Le recidive sono state classificate come: a distanza, ai linfonodi loco-regionali, locali o in transito, e in sedi multiple. Complessivamente, le recidive loco-regionali e ai linfonodi rappresentano il 50% dei casi. La maggior parte delle recidive linfonodali si verifica nel primo anno e vengono rilevate tramite esame obiettivo e l'ecografia dei linfonodi.

I fattori di rischio per una recidiva linfonodale sono: la presenza di invasione linfovaskolare e la quantità di cellule tumorali presenti nel linfonodo asportato alla biopsia del sentinella; mentre, l'invasione linfovaskolare, il carico tumorale, lo spessore di Breslow ≥ 4 mm, la microsatellitosi e l'estensione extra-capsulare (ECE) sono fattori predittivi della sopravvivenza libera da recidiva (RFS).

In uno studio retrospettivo del Moffitt Cancer Center, sono stati esaminati 177 pazienti con melanoma e linfonodo sentinella positivo senza aver subito una linfadenectomia. La terapia adiuvante è stata sottoposta a 66 pazienti (37%) e, dopo 24 mesi, 48 pazienti (27%) hanno avuto una recidiva. Questi pazienti presentavano tumori primari più spessi, spesso ulcerati, con microsatellitosi e un maggior carico tumorale nel linfonodo sentinella.³³

Uno studio dell'MD Anderson Cancer Center ha esaminato 215 pazienti con melanoma allo stadio III e linfonodo sentinella positivo. Di questi pazienti, nessuno è stato sottoposto a linfadenectomia radicale e il 47% ha ricevuto una terapia adiuvante successiva. Il 25% dei pazienti trattati con terapia sistemica ha sviluppato una recidiva (50% linfonodi, 38% locoregionale senza coinvolgimento linfonodale, 12% metastasi a distanza).³⁴

4.0 MELANOMA SARCOMATOIDE

Il melanoma sarcomatoide (MS), altresì definito anche come melanoma indifferenziato, de-differenziato, desmoplastico, è una rara neoplasia caratterizzata tendenzialmente da cellule prive dell'espressione di marcatori melanocitici immunoistochimici. Generalmente, il MS viene diagnosticato attraverso l'identificazione di residui di un melanoma, presentanti o meno la mutazione BRAF/NRAS, e/o la presenza di un melanoma precedente/concomitante.

Tuttavia, l'eccezionale rarità di questo istotipo e la scarsa letteratura esistente che ne descrive il comportamento clinico, non hanno ancora permesso di definire in maniera puntuale le caratteristiche clinico-patologiche utili ai fini diagnostici che orientino precocemente ad una corretta diagnosi evitando al paziente un trattamento inadeguato. È fondamentale diagnosticare il MS mediante nuovi marcatori e fattori isto-prognostici per differenziare la terapia dalle patologie con cui vengono spesso misconosciuti (sarcomi dei tessuti molli, tumori indifferenziati a comportamento sconosciuto) e per testare anche in questo tipo di melanoma l'efficacia delle terapie utilizzate per il melanoma classico sul MS.³⁵⁻³⁶

4.1 CARATTERISTICHE ISTOLOGICHE

Il MS è una neoplasia di origine cutanea caratterizzata da cellule fusate pleomorfe con o senza differenziazione rabdoide, osteoide o condroide che manca completamente o quasi dell'espressione dei marcatori melanocitari immunohistochimici S100, SOX10, Melan-A/MART1, MITF, tirosinasi e HMB45.

Istologicamente, il MS può mostrare una elevata variabilità rispetto al melanoma comune, con tratti variamente mescolati di differenziazione melanocitaria, fibroblastica e schwanniana.³⁷⁻³⁸

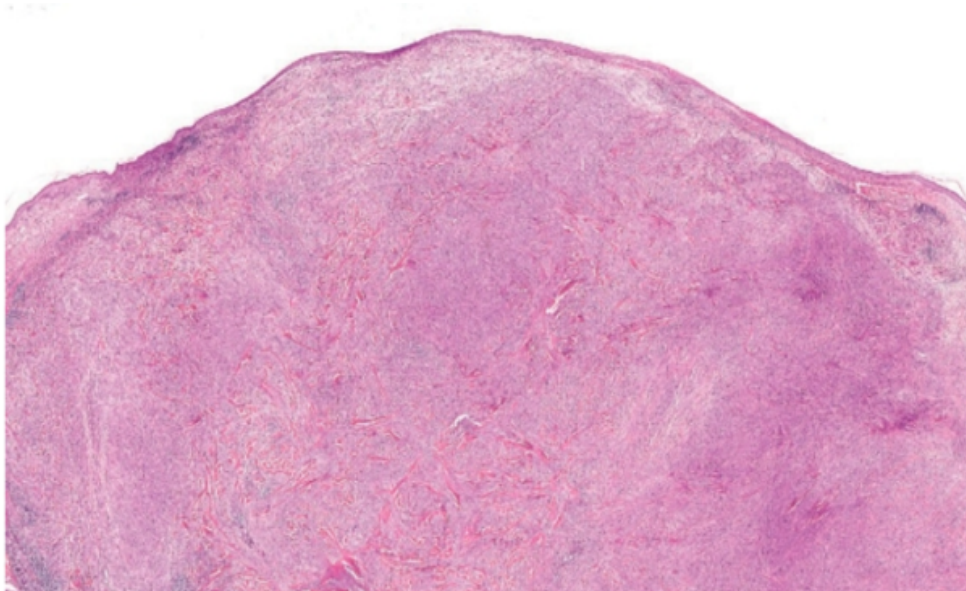


Figura 14: Melanoma sarcomatoide

4.2 CARATTERISTICHE DERMATOSCOPICHE

L'analisi dermoscopia, differentemente da altri tipi di melanoma, è di difficile interpretazione poiché non permette di riconoscere dei pattern specifici.

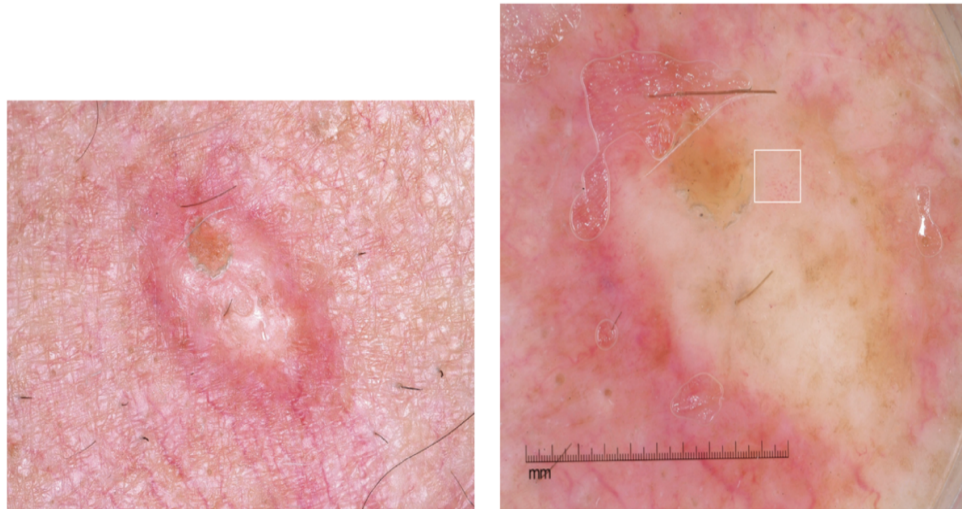


Figura 15: A sinistra una immagine clinica di un MS di 6,1 mm. A destra una immagine dermoscopia dello stesso melanoma che mostra sottili vasi punteggiati (riquadro). È stata eseguita una biopsia che ha rivelato un melanoma sarcomatoide di 6,1 mm senza alcune componente epidermica associata.

5 SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo di questo studio è analizzare le caratteristiche clinico-patologiche del MS in una popolazione di pazienti affetti da questo raro sottotipo e di confrontare la prognosi e la sopravvivenza di questi pazienti con i dati del MM presenti in letteratura. Inoltre, analizzando le caratteristiche istopatologiche e i dati clinici disponibili nella nostra casistica originale, tentare di identificare dei markers caratteristici che possano aiutare i medici (dermatologi, anatomo-patologi, chirurghi, oncologi) a sospettare questo raro sottotipo di melanoma dalle patologie “mimick”.

6 MATERIALI E METODI

6.1 DISEGNO DELLO STUDIO

Si tratta di uno studio retrospettivo di coorte sul melanoma in pazienti che sono stati diagnosticati e/o trattati per un melanoma primario o metastatico presso l'Istituto Oncologico Veneto (IOV) e l'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova (AOPD) tra novembre 2009 e ottobre 2023.

6.2 PAZIENTI

Tutti i pazienti diagnosticati e/o trattati per MM nel periodo 2009-2023 presso lo IOV e l'AOPD sono stati considerati per l'inclusione nello studio. Alcuni pazienti della coorte hanno ricevuto la diagnosi di MM in altri centri locali della regione o in altri ospedali nazionali e cliniche private e poi inviati allo IOV o all'AOPD per revisione istologica (in considerazione della grande "expertise" della Anatomia Patologica di Azienda Ospedaliera), per il successivo trattamento o per la progressione della malattia, dal momento che IOV e AOPD sono centri di riferimento di III livello Veneto, nel Nord-Est dell'Italia; inoltre, lo IOV è il centro di riferimento per il melanoma nel Veneto.

Da notare che alcuni pazienti inclusi nello studio hanno ricevuto una diagnosi corretta solo dopo la revisione istologica dei campioni erroneamente diagnosticati altrove, dopo la progressione della malattia in casi già noti o dopo la comparsa di anomalie riscontrate nella storia clinica di una patologia precedentemente diagnosticata ma diversa dal melanoma. Pertanto, tutti i pazienti inclusi nello studio hanno ricevuto una diagnosi istologica da parte di patologi esperti in malattie cutanee di uno dei due centri di riferimento di III livello.

I principali criteri di inclusione sono stati:

- Identificazione di residui almeno minimi di melanoma comune associato alla componente sarcomatoide;

- Individuazione di mutazioni geniche con il melanoma (principalmente BRAF e NRAS);
- Anamnesi di un melanoma precedente e/o concomitante;
- Localizzazione in siti insoliti per il sarcoma e usuali per il melanoma, come i linfonodi ascellari e inguinali, il sistema nervoso centrale o l'intestino tenue;
- Malattia multifocale tipica della diffusione del melanoma;
- Assenza di un primitivo alternativo in altri organi, come il carcinoma anaplastico.

6.3 DIAGNOSI E TRATTAMENTO

I dati istologici, clinici e di follow-up sono stati estratti dai referti delle visite programmate, dai referti degli interventi chirurgici e dagli esami istologici. Quando la diagnosi di MM risaliva a un periodo precedente alla refertazione medica digitale nei due ospedali e/o quando i pazienti hanno continuato il trattamento per il melanoma altrove i dati presentano delle incompletezze, mentre i casi clinici giunti alla nostra osservazione solo per una “second opinion” (revisione istologica) sono stati trattati completamente altrove; pertanto, presentano delle gravi mancanze di informazioni sui trattamenti ricevuti. I casi di melanoma sono stati classificati al momento della diagnosi in base all'ottava edizione del sistema di stadiazione dei tumori (AJCC).¹² La sopravvivenza globale (OS) è stata calcolata dalla data della diagnosi alla data del decesso o dell'ultimo accesso in ospedale per qualsiasi scopo.

6.4 RACCOLTA DEI DATI

I dati istologici, clinici e di follow-up sono stati estratti dai referti delle visite programmate, verbali di interventi chirurgici ed esami istologici. I casi di MM sono stati classificati al momento della diagnosi sulla base dell'ottava edizione dell'American Joint Committee on Cancer (AJCC). La sopravvivenza globale (OS) è stata calcolata dalla data della diagnosi alla data del decesso o dell'ultimo accesso in ospedali per qualsiasi scopo.

La sopravvivenza libera da malattia (DFS) è stata calcolata dalla data della diagnosi alla data della recidiva o alla data dell'ultima visita/morte per i pazienti senza storia di recidiva. La malattia recidiva comprendeva la recidiva locale, le metastasi linfonodali regionali, le metastasi cutanee, le metastasi in transito e le metastasi a distanza. La recidiva locale, le metastasi linfonodali regionali, le metastasi cutanee regionali e in transito sono state raggruppate durante l'analisi dei dati e considerate insieme come recidiva locoregionale, corrispondente a uno stadio clinico e patologico III, in contrapposizione alle metastasi a distanza, corrispondente a uno stadio IV.

6.5 ANALISI STATISTICA

I dati numerici sono stati riassunti come mediana e media per le variabili quantitative e come numero e percentuale per le variabili qualitative. Le caratteristiche cliniche e istologiche dei pazienti maschi e femmine sono state confrontate utilizzando il test χ^2 per le variabili qualitative e il test t-Student per le variabili quantitative.

Le caratteristiche immunoistochimiche sono state riassunte come numero di pazienti e come percentuali di pazienti in base alla loro positività o negatività di risposta al test.

Un valore di $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

È stata condotta un'analisi di sopravvivenza utilizzando il metodo Kaplan-Meier; il p-value della differenza dato dal Log-rank test risulta significativo per un valore di $p < 0,05$

La piccola popolazione della casistica è stato un limite per la significatività statistica, pertanto, non abbiamo potuto in questa fase preliminare, approfondire con modelli più complessi.

I dati sono stati raccolti con Microsoft Excel e analizzati con la versione del software MedCalc® versione 22.026.

7 RISULTATI

7.1 CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI

Durante il periodo dello studio sono stati analizzati 30 pazienti, 12 femmine e 18 uomini, con un range di età dai 26 agli 89 anni. I pazienti giunti all'osservazione con MM primitivo sono il 76,7% mentre, il 20% dei pazienti si sono presentati con una condizione di malattia metastatica; solo il 3,3% dei pazienti si è presentato come melanoma occulto (primitivo a localizzazione sconosciuta).

Lo stadio clinico più frequente risulta essere lo stadio IV (23,3%), seguito dallo stadio IIC (16,7%), IIB e IIIC (10%), IB (6,7%) e IIIB (3,3%). Globalmente, per un 30% dei pazienti non è stato possibile reperire informazioni sullo stadio clinico perché i pazienti provenivano da altri ospedali e mancavano dei riferimenti sui percorsi diagnostico-terapeutici pregressi.

I dati sul performance status mostrano un 43,3% dei pazienti allo stadio Ecog0, seguiti da un 13,3% di pazienti allo stadio Ecog2 e un 3,3% allo stadio Ecog1 ed Ecog3.

I siti anatomici più frequenti sono il tronco (33,4%) e testa-collo (30%). I pazienti con lesioni primitive al tronco sono in egual misura distribuiti tra maschi e femmine mentre, per i pazienti con lesioni alla testa e collo, c'è una prevalenza negli uomini. Le altre sedi anatomiche (arti superiori ed inferiori) sono ugualmente presenti con un 3,3% sul totale dei pazienti. Infine, esclusivamente nel 25% delle femmine totali si registra la localizzazione del primitivo alle mucose genitali (vagina). Mentre, nei maschi, si registrano una presentazione di MM in sede ileale e una di melanoma occulto. Diversamente, si registra una presentazione clinica metastatica nel 13,4% dei pazienti con un rapporto M:F=3:1.

I pazienti sono giunti nel 23,3% con una diagnosi di sarcoma dei tessuti molli, nel 16,7% di melanoma a istotipo "tipico", nel 26,7% di tumori di altro genere non classificati e nel 33,3% non presentavano informazioni a riguardo.

I dati riguardanti lo spessore di Breslow, l'indice mitotico e l'ulcerazione non sono stati resi disponibili per tutti i pazienti. Nei pazienti valutabili, è stato riscontrato un range dello spessore di Breslow da 1,20 a 11mm, un range di indice mitotico da 4 a 30 mitosi/mm² e presenza di ulcerazione in 10 pazienti (5 maschi e 5 femmine).

L'immunoistochimica ha mostrato che nella totalità dei pazienti ci sono: 86,7% S100 (+), 3,3% S100 (-), 66,7% SOX10 (+), 3,3% SOX10 (-), 36,7% HMB45 (+), 50% HMB45 (-), 40% Melan-A (+), 46,6% Melan-A (-), 26,7% Actina muscolo liscio (+), 3,3% Desmina (+), 33,3% Desmina (-) e 36,6% citocheratine (-).

L'analisi della mutazione BRAF è stata eseguita sul 63,3% dei pazienti mentre il rimanente 36,7% non la presentava oppure non era disponibile per la nostra analisi. Sul totale dei pazienti, il 46,7% aveva il gene BRAF non mutato (WT) mentre, il 16,7% presentava la mutazione nel gene. L'analisi mutazionale di NRAS è stata eseguita solo nel 10% dei pazienti e solamente nel 3,3% dei pazienti risulta presente la mutazione.

Tabella I: Caratteristiche dei pazienti

	Female (N=12)	Male (N= 18)	Total (N=30)	p value
Age¹				
Median	55	77	64	0.0357
Mean (SD)	55	70	64	
Range	37-74	26-89	26-89	
Presentation²				
Primary	11 (91,7%)	12 (66,6%)	23 (76,7%)	
Metastatic	1 (8,3%)	5 (27,8%)	6 (20%)	
Occult	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	
Clinical Stage²				
IB	2 (16,7%)	0	2 (6,7%)	
IIB	2 (16,7%)	1 (5,6%)	3 (10%)	
IIC	1 (8,3%)	4 (22,1%)	5 (16,7%)	
IIIB	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	
IIIC	1 (8,3%)	2 (11,1%)	3 (10%)	
IV	2 (16,7%)	5 (27,8%)	7 (23,3%)	
missing	4 (33,3%)	5 (27,8%)	9 (30%)	
Performance Status²				
Ecog 0	5 (41,7%)	8 (44,4%)	13 (43,3%)	
Ecog 1	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	
Ecog 2	2 (16,6%)	2 (11,1%)	4 (13,3%)	
Ecog 3	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	
missing	5 (41,7%)	6 (33,3%)	11 (36,8%)	
Anatomic site²				
Upper limb	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	
Lower Limb	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	

Head & Neck	3 (25%)	6 (33,2%)	9 (30%)	
Trunk	5 (41,7%)	5 (27,8%)	10 (33,4%)	
Mucosal (Vagina)	3 (25%)	0	3 (10%)	0.0279
Bowel (Ileal)	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	
Occult	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)	
Diffuse Metastatic (liver lung ...)	1 (8,3%)	3 (16,6%)	4 (13,4%)	
Previous Histotype²				
Soft Tissue Sarcoma	2 (16,7%)	5 (27,8%)	7 (23,3%)	
Typical Melanoma (SSM NM)	3 (25%)	2 (11,1%)	5 (16,7%)	
Other unclassified tumors	4 (33,3%)	4 (22,2%)	8 (26,7%)	
missing	3 (25%)	7 (38,9%)	10 (33,3%)	
Histological Features¹				
<i>Breslow</i>				
Median	2	9	10	
Mean (SD)	3	8	5,55	0.0003
Range	1,20-6	4,1-11	1,20-11	
<i>Mitoses</i>				
Median	4,5	21	10	
Mean (SD)	4,3	19,4	13,75	0.0001
Range	4-10	8-30	4-30	
<i>Ulceration</i>	5 (41,7%)	5 (27,8%)	10 (33,3%)	
Markers²				
S100 (+)	10 (83,3%)	16 (88,9%)	26 (86,7%)	
S100 (-)	1 (3,3)	0	0	
SOX10 (+)	7 (58,3%)	13 (72,2%)	20 (66,7%)	
SOX10 (-)	1 (3,3)	0	0	
HMB45 (+)	7 (58,3%)	4 (22,2%)	11 (36,7%)	0.0481
HMB45 (-)	4 (13,3%)	11 (36,6%)	15 (50%)	

Melan-A (+)	6 (50%)	6 (33,3%)	12 (40%)
Melan-A (-)	5 (16,6)	9 (30%)	14 (46,6%)
Actina muscolo liscio (+)	4 (33,3%)	4 (22,2%)	8 (26,7%)
Desmina (+)	0	1 (8,3%)	1 (3,3%)
Desmina (-)	5 (16,6%)	5 (16,6%)	10 (33,3%)
Citocheratine (-)	6 (20%)	5 (16,6%)	11 (36,6%)
Mutational Status²			
<i>BRAF</i>	7 (58,3%)	12 (66,7%)	19 (63,3%)
Wild type	4 (33,3%)	10 (55,6%)	14 (46,7%)
Mutated	3 (25%)	2 (11,1%)	5 (16,7%)
Missing	5 (41,7%)	6 (33,3%)	11 (36,7%)
<i>NRAS</i>	1 (8,3%)	2 (11,1%)	3 (10%)
Wild type	0	2 (11,1%)	2 (6,7%)
Mutated	1 (8,3%)	0	1 (3,3%)
Missing	11 (91,7%)	16 (88,9%)	27 (90%)

7.2 FOLLOW-UP

Considerando i dati di follow-up registriamo un 36,7% dei pazienti con recidiva di malattia (relapse), di cui: 3,3% di natura locoregionale, 23,3% metastasi a distanza e un 10% con entrambe le caratteristiche.

I pazienti presentano complessivamente un follow-up medio di 18 mesi (27 mesi circa per le femmine e 12 per i maschi).

Infine, la valutazione della condizione clinica all'ultimo controllo (last vital status) evidenzia che il 43,4% dei pazienti risulta vivo, in particolare, il 26,7% risulta vivo al controllo anagrafico ma non si ha un riscontro preciso sullo stato della malattia (Alive) mentre il 16,7% è vivo con malattia (Alive with disease). Il 54,3% dei pazienti deceduto a causa della malattia (DOD) mentre, il 3,3% è libero da malattia e in follow-up clinico (NED).

Tabella II: Follow-up

	Female (N= 12)	Male (N= 18)	Total (N=30)
Relapse	5 (41,7%)	6 (33,3%)	11 (36,7%)
Locoregional	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)
Distant	2 (16,7%)	5 (27,8%)	7 (23,3%)
Both	3 (25%)	0	3 (10%)
Follow-up month			
Median	27	12	18
Range	5-85	1-64	1-85
Last Vital Status			
Alive	4 (33,3%)	4 (22,2%)	8 (26,7%)
Alive with disease	2 (16,7%)	3 (16,6%)	5 (16,7%)
DOD	6 (50%)	10 (55,6%)	16 (53,3%)
NED	0	1 (5,6%)	1 (3,3%)

Analizzando le curve di sopravvivenza nei due generi (M/F) si evidenzia come la sopravvivenza globale (OS) entro i primi 10 mesi di follow-up sia ugualmente e drammaticamente caratterizzata dalla morte del 40% circa dei pazienti; dopo e in maniera decisa si assiste a una migliore sopravvivenza delle femmine fino ai 5 anni (60 mesi) dove si registra che il 25% delle donne e il 22% dei maschi sono vivi. Tale percentuale di sopravvivenza rimane costante per le donne fino agli 80 mesi mentre per i maschi dopo i 60 mesi la sopravvivenza cala drasticamente tanto che entro i 70 mesi risultano tutti deceduti (Figura 16).

Per quel che riguarda la sopravvivenza libera da malattia (DFS) a 50 mesi è risultata pari al 10% nei maschi, mentre per le donne è pari al 20% e tale percentuale si mantiene (esclusivamente per le donne) oltre gli 80 mesi mentre per i maschi cala drasticamente in quanto dopo i 50 mesi i maschi risultano tutti deceduti (Figura 17).

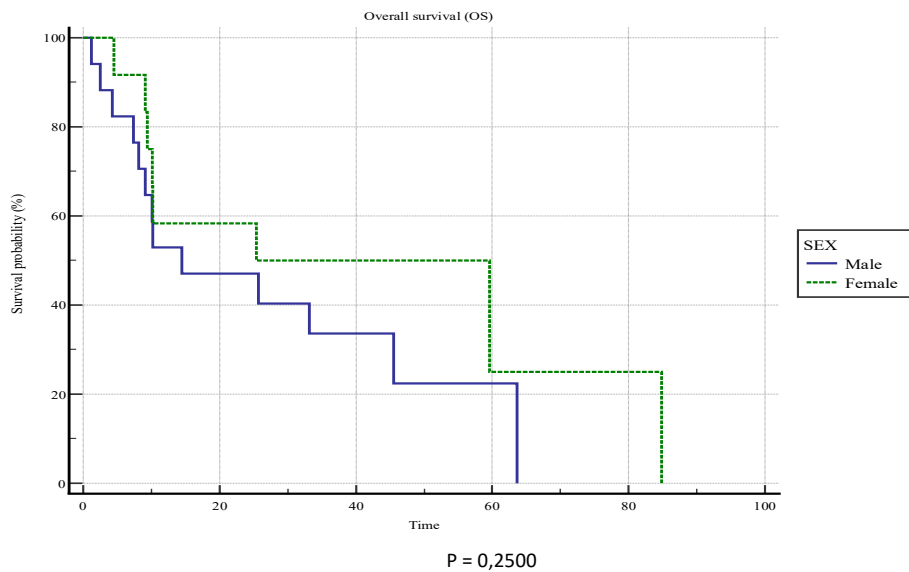


Figura 16: Overall Survival (OS)

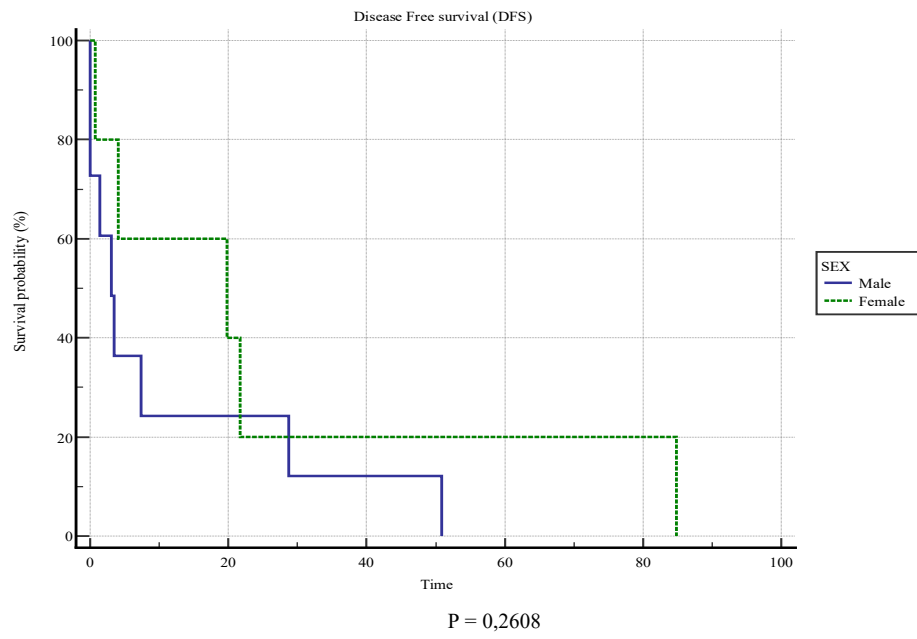


Figura 17: Disease Free Survival

8 DISCUSSIONE

Nel nostro studio sono stati reclutati 30 pazienti, 12 femmine e 18 maschi, con una età mediana di 64 anni e un range di età maggiore per i maschi (26-89) rispetto alle femmine (37-74); infatti, i pazienti con età superiore agli 80 anni sono esclusivamente uomini e rappresentano il 23% sul totale. L'età risulta un parametro significativo ($p=0.0357$; Tabella I) e nel nostro campione presenta un'età media superiore a quella del melanoma convenzionale.²

Le sedi anatomiche più colpite sono la testa-collo (30%) e il tronco (33,4%), risultando coerenti con la letteratura.³⁹ Nel nostro studio, la localizzazione mucosa (vagina) è risultata statisticamente significativa ($p=0.0279$) e si è presentata nel 25% delle femmine.

La maggior parte dei pazienti con MS si presentava con una malattia in stadio III o IV (36,6%), uno spessore medio di Breslow (5,5) e indice mitotico medio (10) elevati (parametri entrambi significativi rispettivamente $p=0.0003$ e $p=0.0001$). Questi dati (Tabella I), se correlati alla curva di sopravvivenza OS (Figura 16), ci evidenziano graficamente l'andamento brusco della sopravvivenza nel gruppo di pazienti del nostro studio con stadio molto avanzato alla diagnosi. Infatti, abbiamo registrato una mortalità per melanoma del 53,3% con una media di sopravvivenza di 17 mesi tra la diagnosi e la morte per MS. Escludendo i pazienti definiti come "Alive", i rimanenti pazienti vivi con malattia (Alive with disease) presentano un follow-up medio di 37 mesi.

Un altro dato fondamentale per il nostro studio è la diagnosi di partenza dei pazienti giunti alla nostra osservazione. Il 23,3% presentava una diagnosi di sarcoma dei tessuti molli e il 26,7% di tumori di altro genere non meglio classificati. Quindi, una fetta considerevole di questi pazienti presentava una diagnosi poco chiara e non definitiva che li escludeva da un trattamento adeguato condizionandone gravemente la prognosi futura. La corretta caratterizzazione e diagnosi di MS da parte dei nostri patologi pertanto ha

reso possibile l'accesso di questi pazienti ai farmaci di nuova generazione per il melanoma (immunoterapia e target) e nel 50% di questi (quelli in cui il ritardo diagnostico era accettabile) potrebbe incidere positivamente sulla prognosi.

L'analisi dermatoscopica rappresenta ancora un campo di studio inesplorato nella diagnosi di MS a causa dell'assenza di elementi caratteristici e anche noi non l'abbiamo affrontata nella nostra esperienza.

L'immunoistochimica invece rappresenta il punto cardine del nostro studio. Negli anni è stata descritta una vasta gamma di marcatori per i melanociti, tra cui la proteina S100, HMB45, Melan-A e SOX-10. La proteina S100 è molto sensibile per i melanociti, ma molto meno specifica di altri marcatori, tra cui HMB45 e Melan-A. Infatti, la proteina S100 risulta positiva anche per le cellule di Schwann, le cellule gliali, gli adipociti, i condrociti, le cellule mioepiteliali, le cellule di Langerhans e quindi i tumori da loro derivanti. Inoltre, la proteina S100 è anche spesso focalmente positiva in un certo numero di tumori dei tessuti molli e quindi dovrebbe essere utilizzata come parte di un pannello di marcatori nella diagnosi di tumori scarsamente differenziati. Nel nostro studio l'86,7% dei pazienti è risultato positivo a S100, questa positività si manifestava nel 100% dei casi clinici che avevano come precedente diagnosi un sarcoma dei tessuti molli o tumore di origine sconosciuta.

SOX10 presenta un pattern di colorazione nucleare ed è utile nella diagnosi differenziale tra MS e tumori che vengono confusi con esso dal punto di vista istologico, tra cui il carcinoma sarcomatoide, il fibroxantoma atipico e vari altri sarcomi. Nel nostro studio il 66,7% dei pazienti è risultato positivo a SOX10 e, nei pazienti con precedente diagnosi di sarcoma o tumore di origine sconosciuta, c'è stato il 100% di positività. Inoltre, a causa della sua colorazione nucleare, SOX-10 è molto utile nella valutazione della componente intraepiteliale delle proliferazioni melanocitiche.

HMB45 è un anticorpo che non colora i melanociti adulti normali o i nevi intradermici. È un anticorpo molto specifico e di solito è negativo nel MS. Circa il 90% dei melanomi primari e metastatici sono positivi per questo marcatore. Nel nostro studio, l'analisi di HMB45 è risultata significativa ($p=0.0481$) e ha mostrato negatività nel 50% dei casi, confermando i dati presenti in letteratura.

Melan-A è un marcatore piuttosto specifico dei melanociti e colora i nevi e i melanomi, ma tende ad essere negativo nel MS, nel melanoma a cellule fusiformi e nei nevi neurotizzati. Melan-A può anche occasionalmente colorare i melanociti, probabilmente a causa del trasferimento della proteina dai melanociti ai cheratinociti, risultando meno utile nella distinzione tra melanoma e cheratosi attinica. Nel nostro studio, i pazienti con Melan-A (-) sono il 46,7%.

Pertanto, i marcatori melanocitici sono particolarmente utili come parte di un pannello nella diagnosi differenziale di tumori maligni scarsamente differenziati. Infatti, il MS è solitamente positivo per le proteine S100 e SOX10 ma negativo per marcatori melanocitici come Melan-A e HMB45. Nel nostro studio sono anche presenti analisi di marcatori tipicamente positivi nei tumori indifferenziati o carcinomi a cellule fusate, i quali rientrano nella diagnosi differenziale di MS, come: citocheratine, desmina e actina del muscolo liscio. Nel nostro studio, tutti i pazienti analizzati con questi marcatori sono risultati negativi. Quindi riassumendo dal punto di vista immunostochimico, quando si registra una mancanza di positività per marcatori melanocitici come Melan-A e HMB45, una mancata positività alle citocheratine, desmina e actina del muscolo liscio, se pur presente positività per S100 e SOX10, potrebbe scaturire un primo indizio di MS.

L'analisi delle curve di sopravvivenza per genere (M/F) ha mostrato come la sopravvivenza globale (OS) entro i primi 10 mesi di follow-up sia del 40% circa dei pazienti questo dato corrisponde ai dati della letteratura ⁴⁰ che si riferiscono a pazienti metastatici o in stadio IV (verosimilmente quelli della

nostra casistica in queste condizioni cliniche); dopo e in maniera decisa si assiste a una migliore sopravvivenza delle femmine fino ai 5 anni (60 mesi) dove si registra che il 25% delle donne e il 22% dei maschi sono vivi e anche qui la tendenza è paragonabile ai pazienti metastatici della letteratura ⁴⁰. Tuttavia, sia la curva OS che quella DSF non si sono dimostrate significative (rispettivamente $P=0,2500$ e $P=0,2608$) e per la scarsa numerosità del campione e per lo sbilanciamento verso casi in stadio avanzato alla diagnosi.

L'analisi della mutazione BRAF è stata condotta sul 63,3% dei pazienti e, complessivamente, il 46,7% dei pazienti aveva il gene BRAF non mutato (WT) e il 16,7% presentava la mutazione. L'analisi mutazionale di NRAS è stata effettuata solo sul 10% dei pazienti, e la mutazione è stata riscontrata solo nel 3,3% di questi.

9 LIMITI E PUNTI DI FORZA DELLO STUDIO

La principale limitazione al nostro studio considerata la sua natura retrospettiva è stata la difficoltà a reperire tutte le informazioni necessarie; inoltre, la presenza nella nostra casistica di pazienti trattati in altra sede, giunti alla nostra osservazione solo per una “second opinion” o in seguito ad una evoluzione clinica bizzarra e gravemente metastatica di una patologia oncologica, ha limitato l’accesso ai dati clinici sui trattamenti ricevuti.

Tuttavia, se pur in presenza di queste limitazioni, il nostro studio ha permesso di rilevare informazioni statisticamente significative riguardanti diversi aspetti (demografici, isto-prognostici e immunoistochimici). Tutto questo sommato alle conferme con i dati della letteratura sul MS, rendono la nostra esperienza monocentrica un valido contributo, pongono le premesse per una sicura implementazione con nuovi casi clinici e la selezione dei casi clinici da sottoporre all’analisi genomica e al sequenziamento.

10 CONCLUSIONI

La diagnosi di MS dovrebbe essere presa in considerazione quando si valuta una neoplasia pleomorfa a cellule fusate in sedi anomale (es: vagina e intestino) o comuni per il melanoma (es: testa/collo e tronco), con spessore di Breslow e indice mitotico mediamente più elevato, con una immunohistochimica caratterizzata dalla mancata positività dei marcatori immunohistochimici più specifici del melanoma (HMB45 e Melan-A) , presenza della positività a S100 e SOX10, in presenza di una assoluta mancanza di positività alle citocheratine, alla desmina e alla actina del muscolo liscio.

Studi futuri con un numero maggiore di pazienti saranno fondamentali per confermare le prime indicazioni che emergono da studi monocentrici come il nostro che sottolinea la necessità di una adeguata diagnosi precoce, di uno stretto follow-up clinico del paziente, di una attenta correlazione clinico-patologica e di una possibilità di studio genomico aggiuntivo.

BIBLIOGRAFIA

1. Sanchez JA, Robinson WA. Malignant melanoma. *Annu Rev Med.* 1993;44:335-342. doi:10.1146/annurev.me.44.020193.002003
2. Griffiths C., Barker J., Bleiker T., Hussain W., Simpson R. Rook's Textbook of Dermatology, 10th
3. Registro Tumori Veneto. Statistiche [Internet]. [cited 13.06.2024]. Available from: <https://gecoopendata.registrotumoriveneto.it/incidenza.php>
4. Istituto Nazionale di Statistica [ISTAT]. Statistiche [Internet]. [cited 13.06.2024]. Available from: <http://dati.istat.it/viewhtml.aspx?il=blank&vh=0000&vf=0&vcq=1100&graph=0&view-metadata=1&lang=it&QueryId=26435#>
5. American Cancer Society [Internet]. [cited 13.06.2024]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/types/melanoma-skin-cancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html>
6. Coleman W, Mariwalla K, Grimes P. Updating the Fitzpatrick Classification: The Skin Color and Ethnicity Scale. *Dermatol Surg.* 2023;49(8):725-731. doi:10.1097/DSS.0000000000003860
7. Kittler, H., Pehamberger, H., Wolff, K., & Binder, M. (2002). Diagnostic accuracy of dermoscopy. *The Lancet. Oncology*, 3(3), 159–165. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(02\)00679-4](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(02)00679-4)
8. Vestergaard, M. E., Macaskill, P., Holt, P. E., & Menzies, S. W. (2008). Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical

- setting. *The British journal of dermatology*, 159(3), 669–676.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2008.08713.x>
9. Skin Cancer [Internet]. [cited 13.06.2024]. Available from:
<https://www.skincancer.org/international/gli-abcde-del-melanoma/>
 10. Ahmed B, Qadir MI, Ghafoor S. Malignant Melanoma: Skin Cancer-Diagnosis, Prevention, and Treatment. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2020;30(4):291-297. doi:10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2020028454
 11. Hernández-Rodríguez JC, Durán-López L, Domínguez-Morales JP, Ortiz-Álvarez J, Conejo-Mir J, Pereyra-Rodríguez JJ. Prediction of melanoma Breslow thickness using deep transfer learning algorithms. *Clin Exp Dermatol*. 2023;48(7):752-758. doi:10.1093/ced/llad107
 12. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93-99. doi:10.3322/caac.21388
 13. Cancer Research UK [Internet]. [cited 14.06.2024]. Available from:
<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/melanoma/stages-types/clark-breslow-staging>
 14. Balch, C. M., Soong, S. J., Gershenwald, J. E., Thompson, J. F., Reintgen, D. S., Cascinelli, N., Urist, M., McMasters, K. M., Ross, M. I., Kirkwood, J. M., Atkins, M. B., Thompson, J. A., Coit, D. G., Byrd, D., Desmond, R., Zhang, Y., Liu, P. Y., Lyman, G. H., & Morabito, A. (2001). Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 19(16), 3622–3634.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.16.3622>

15. In 't Hout, F. E., Haydu, L. E., Murali, R., Bonenkamp, J. J., Thompson, J. F., & Scolyer, R. A. (2012). Prognostic importance of the extent of ulceration in patients with clinically localized cutaneous melanoma. *Annals of surgery*, 255(6), 1165–1170.
<https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31824c4b0b>
16. Melanoma Italia Onlus [Internet]. [cited 13.06.2024]. Available from:
<https://www.melanomaitalia.org/>
17. LINEE GUIDA MELANOMA. AIOM. Published August 22, 2023 [Internet]. [cited: 14.06.2024]. Available from: <https://www.aiom.it/linee-guida-aiom-2023-melanoma/>
18. Yang J, Lian JW, Chin YH, et al. Assessing the Prognostic Significance of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Patients With Melanoma Using Pathologic Features Identified by Natural Language Processing. *JAMA Netw Open*. 2021;4(9):e2126337. Published 2021 Sep 1. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.26337
19. Blessing K, McLaren KM. Histological regression in primary cutaneous melanoma: recognition, prevalence and significance. *Histopathology*. 1992;20(4):315-322. doi:10.1111/j.1365-2559.1992.tb00988.x
20. Ribero S, Osella-Abate S, Sanlorenzo M, et al. Favourable prognostic role of regression of primary melanoma in AJCC stage I-II patients. *Br J Dermatol*. 2013;169(6):1240-1245. doi:10.1111/bjd.12586
21. Agenzia Nazionale per i Servizi Sanitari Regionali [Internet]. [cited 13.06.2024].
[https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_downloadMiaPelle_3_allegati_item Allegati_0_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_downloadMiaPelle_3_allegati_item_Allegati_0_allegato.pdf)
22. Houvenaeghel G, Cohen M, Classe JM, et al. Lymphovascular invasion has a significant prognostic impact in patients with early breast cancer, results

- from a large, national, multicenter, retrospective cohort study. *ESMO Open*. 2021;6(6):100316. doi:10.1016/j.esmoop.2021.100316
23. Teixido C, Castillo P, Martinez-Vila C, Arance A, Alos L. Molecular Markers and Targets in Melanoma. *Cells*. 2021; 10(9):2320. <https://doi.org/10.3390/cells10092320>
24. Cancer Genome Atlas Network (2015). Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell*, 161(7), 1681–1696. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.044>
25. Zhang, T., Dutton-Regester, K., Brown, K. M., & Hayward, N. K. (2016). The genomic landscape of cutaneous melanoma. *Pigment cell & melanoma research*, 29(3), 266–283. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12459>
26. Menzies, A. M., Haydu, L. E., Visintin, L., Carlino, M. S., Howle, J. R., Thompson, J. F., Kefford, R. F., Scolyer, R. A., & Long, G. V. (2012). Distinguishing clinicopathologic features of patients with V600E and V600K BRAF-mutant metastatic melanoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 18(12), 3242–3249. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0052>
27. Edlundh-Rose, E., Egyházi, S., Omholt, K., Månsson-Brahme, E., Platz, A., Hansson, J., & Lundeberg, J. (2006). NRAS and BRAF mutations in melanoma tumours in relation to clinical characteristics: a study based on mutation screening by pyrosequencing. *Melanoma research*, 16(6), 471–478. <https://doi.org/10.1097/01.cmr.0000232300.22032.86>
28. Hartman RI, Lin JY. Cutaneous Melanoma-A Review in Detection, Staging, and Management. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019;33(1):25-38. doi:10.1016/j.hoc.2018.09.005

29. Davis LE, Shalin SC, Tackett AJ. Current state of melanoma diagnosis and treatment. *Cancer Biol Ther.* 2019;20(11):1366-1379. doi:10.1080/15384047.2019.1640032
30. Cuevas LM, Daud AI. Immunotherapy for melanoma. *Semin Cutan Med Surg.* 2018;37(2):127-131. doi:10.12788/j.sder.2018.028
31. Sun J, Carr MJ, Khushalani NI. Principles of Targeted Therapy for Melanoma. *Surg Clin North Am.* 2020;100(1):175-188. doi:10.1016/j.suc.2019.09.013
32. Walter FM, Prevost AT, Vasconcelos J, et al. Using the 7-point checklist as a diagnostic aid for pigmented skin lesions in general practice: a diagnostic validation study. *Br J Gen Pract J R Coll Gen Pract.* 2013;63(610):e345-353. doi:10.3399/bjgp13X667213
33. Broman, K. K., Bettampadi, D., Pérez-Morales, J., Sun, J., Kirichenko, D., Carr, M. J., Eroglu, Z., Tarhini, A. A., Khushalani, N., Schabath, M. B., Sarnaik, A., Sondak, V. K., & Zager, J. S. (2021). Surveillance of Sentinel Node-Positive Melanoma Patients Who Receive Adjuvant Therapy Without Undergoing Completion Lymph Node Dissection. *Annals of surgical oncology*, 28(12), 6978–6985. <https://doi.org/10.1245/s10434-021-10570-5>
34. Mitra, D., Ologun, G., Keung, E. Z., Goepfert, R. P., Amaria, R. N., Ross, M. I., Gershenwald, J. E., Lucci, A., Fisher, S. B., Davies, M. A., Lee, J. E., Bishop, A. J., Farooqi, A. S., Wargo, J., & Guadagnolo, B. A. (2021). Nodal Recurrence is a Primary Driver of Early Relapse for Patients with Sentinel Lymph Node-Positive Melanoma in the Modern Therapeutic Era. *Annals of surgical oncology*, 28(7), 3480–3489. <https://doi.org/10.1245/s10434-021-09804-3>
35. Agaimy A, Stoehr R, Hornung A, Popp J, Erdmann M, Heinzerling L, Hartmann A. Dedifferentiated and undifferentiated melanomas: report of 35

- new cases with literature review and proposal of diagnostic criteria. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2021 Feb 1;45(2):240-54.
36. Erstine EM, Tetzlaff MT, Ko JS, Prieto VG, Cheah AL, Billings SD. Living on the edge: diagnosing sarcomatoid melanoma using histopathologic cues at the edge of a dedifferentiated tumor: a report of 2 cases and review of the literature. *The American Journal of Dermatopathology*. 2017 Aug 1;39(8):593-8.
37. Agaimy A, Specht K, Stoehr R, Lorey T, Märkl B, Niedobitek G, Straub M, Hager T, Reis AC, Schilling B, Schneider-Stock R. Metastatic malignant melanoma with complete loss of differentiation markers (undifferentiated/dedifferentiated melanoma). *The American journal of surgical pathology*. 2016 Feb 1;40(2):181-91.
38. Cipriani NA, Letovanec I, Hornicek FJ, Mullen JT, Duan Z, Borger DR, et al. BRAF mutation in sarcomas: a possible method to detect dedifferentiated melanomas. *Histopathology* 2014 Apr;64(5):639-46.
39. Shannon CM, Mehta NK, Li H, et al. Anatomic Region of Cutaneous Melanoma Impacts Survival and Clinical Outcomes: A Population-Based Analysis. *Cancers (Basel)*. 2023;15(4):1229. Published 2023 Feb 15. doi:10.3390/cancers15041229
40. Buja A, Bardin A, Damiani G, et al. Prognosis for Cutaneous Melanoma by Clinical and Pathological Profile: A Population-Based Study. *Front Oncol*. 2021;11:737399. Published 2021 Nov 16. doi:10.3389/fonc.2021.737399

ELENCO DELLE FIGURE

1. Figura 1: Trend temporale del tasso di incidenza dal 1987 al 2019. Tasso standardizzato per 100,000 abitanti, popolazione Europa 2013. (Adattamento da https://gecoopendata.registrotumoriveneto.it/incidenza.php?sede=melanoma_cutaneo&codSede=C43-C43.9)
2. Figura 2: Tassi di incidenza per sesso e classi d'età. Tasso per 100,000 ab. Anni 2018-2020. (adattamento da https://gecoopendata.registrotumoriveneto.it/incidenza.php?sede=melanoma_cutaneo&codSede=C43-C43.9)
3. Figura 3: Tre esempi di brutto anatroccolo (adattamento da: <https://www.skincancer.org/international/gli-abcde-del-melanoma/>)
4. Figura 4: Profondità di Breslow (adattamento da Rook's Textbook of Dermatology, 10th Edition)
5. Figura 5: Principali strati della cute (Adattato da: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/melanoma/stages-types/clark-breslow-staging>)
6. Figura 6: Kaplan-Meier Melanoma-Specific Survival Curves According to Mitotic Rate (Mitoses per mm²) in Patients with Stage I and II Melanoma. From the Eighth Edition International Melanoma Database.
7. Figura 7: Schematic figure illustrating the different types of TIL infiltrates in vertical growth phase (VGP) melanomas. (a, b) Brisk lymphocytic infiltrate patterns. (c, d) Nonbrisk lymphocytic infiltrate patterns. (e-h) Absent lymphocytic infiltrate patterns. Adattato da Molecular Diagnostics for Melanoma. Methods in Molecular Biology, vol 1102. Humana Press, Totowa, NJ.

8. Figura 8: Pathway fondamentali nel melanoma. Teixido C, Castillo P, Martinez-Vila C, Arance A, Alos L. Molecular Markers and Targets in Melanoma. *Cells*. 2021; 10(9):2320. <https://doi.org/10.3390/cells10092320>
9. Figura 9: La classificazione dei melanomi (modificata dalla classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità del 2018). Adattamento da: <https://doi.org/10.3390/cells10092320>
10. Figura 10: Alterazioni genomiche dei sottotipi di melanoma definiti dall'esposizione ai raggi UV. Abbreviazioni: amp, amplificazione; CSD, danno solare cumulativo; rearr, riarrangiamento; TMB, carico mutazionale tumorale; UV, ultravioletto. Adattamento da: <https://doi.org/10.3390/cells10092320>
11. Figura 11. Categorie TNM per la stadiazione del melanoma cutaneo (adattamento da Rook's Textbook of Dermatology, 10th Edition)
12. Figura 12: Staging patologico e clinico (adattamento da Rook's Textbook of Dermatology, 10th Edition)
13. Figura 13: La biopsia del linfonodo sentinella consente di rilevare le micrometastasi del melanoma nei linfonodi regionali. Il tracciante radioattivo e il colorante vengono iniettati per via intradermica nella sede del tumore primario del melanoma e seguono la via di drenaggio linfatico fino al primo linfonodo regionale, o linfonodo sentinella.

Intraoperatoriamente, viene utilizzata una sonda per individuare il linfonodo bersaglio, che viene poi escisso chirurgicamente per la valutazione patologica. Per gentile concessione di Hensin Tsao, Skin Cancer Genetics Laboratory/Wellman Center for Photomedicine, Boston, MA, USA.
14. Figura 14: Melanoma sarcomatoide

15. Figura 15: A sinistra una immagine clinica di un MS di 6,1 mm. A destra una immagine dermoscopia dello stesso melanoma che mostra sottili vasi punteggiati (riquadro). È stata eseguita una biopsia che ha rivelato un melanoma sarcomatoide di 6,1 mm senza alcune componente epidermica associata.

16. Figura 16: Overall Survival (OS)

17. Figura 17: Disease Free Survival (DSF)

ELENCO DELLE TABELLE

1. Tabella I: Caratteristiche dei pazienti.
2. Tabella II: Follow-up.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio la mia famiglia e la mia ragazza che mi hanno sempre sostenuto e supportato durante questo percorso.

Ringrazio i miei compagni di studi, con i quali ho condiviso tante gioie e alcuni periodi di stress.

Ringrazio Paolo Del Fiore e tutti quelli che mi hanno aiutato nella stesura di questa tesi.

Infine, ringrazio me stesso per la dedizione e il sacrificio dimostrati durante questo percorso.