



# Università degli Studi di Ferrara

DOTTORATO DI RICERCA IN  
"SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE"

CICLO XXX

COORDINATORE Prof. Pinton Paolo

**"STUDIO PROSPETTICO OSSERVAZIONALE IN PAZIENTI  
AFFETTI DA MELANOMA CUTANEO PRIMITIVO E  
SOTTOPOSTI A BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA"**

Settore Scientifico Disciplinare MED/18

**Tutore**  
Prof. Zamboni Paolo

**Dottorando**  
Dott.ssa Zanzi Maria Vittoria

**Cotutore**  
Prof. Carcoforo Paolo

Anni 2014/2017

**INDICE**

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUZIONE</b> .....                                       | 3  |
| 1.1 Definizione ed epidemiologia .....                            | 4  |
| 1.2 Fattori di rischio.....                                       | 10 |
| 1.2.1 <i>Endogeni</i> .....                                       | 10 |
| 1.2.2 <i>Esogeni</i> .....  | 12 |
| 1.3 Diagnosi clinica .....  | 15 |
| 1.4 La dermatoscopia.....   | 17 |
| 1.5 Classificazione clinica del melanoma cutaneo91 .....          | 18 |
| 1.5.1 <i>Melanoma piano</i> .....                                 | 19 |
| 1.5.2 <i>Melanoma cupoliforme</i> .....                           | 20 |
| 1.5.3 <i>Melanoma piano-cupoliforme</i> .....                     | 20 |
| 1.6 Associazione nevo melanocitico-melanoma.....                  | 20 |
| 1.7 Conferma diagnostica MEDIANTE BIOPSIA.....                    | 21 |
| 1.8 Diagnosi istopatologica.....                                  | 22 |
| 1.8.1 <i>Classificazione istologica del melanoma</i> .....        | 23 |
| 1.9 PROGRESSIONE TUMORALE E FATTORI PROGNOSTICI.....              | 27 |
| 1.10 STADIAZIONE.....   | 31 |
| 1.11 MELANOMA METASTATICO.....                                    | 35 |
| 1.11.1 <i>Diagnosi delle metastasi</i> .....                      | 37 |
| 1.12 TRATTAMENTO CHIRURGICO DEL TUMORE PRIMARIO .....             | 40 |
| 1.13 BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA E DISSEZIONE SELETTIVA .... | 42 |
| 1.13.1 <i>Modalità della dissezione linfonodale</i> .....         | 45 |
| 1.14 CHIRURGIA STADIO IIIC IN TRANSIT-IV .....                    | 48 |
| 1.15 FOLLOW-UP .....  | 49 |
| <br>  |    |
| <b>2 PRESENTAZIONE DELLA RICERCA</b> .....                        | 51 |
| <br>  |    |
| <b>3 MATERIALI E METODI</b> .....                                 | 54 |
| 3.1 MAPPAGGIO DEL LINFONODO SENTINELLA .....                      | 55 |
| 3.2 PROCEDURA CHIRURGICA .....                                    | 55 |
| 3.3 ANALISI PATOLOGICA .....                                      | 56 |
| 3.4 FOLLOW-UP .....   | 56 |
| 3.5 ANALISI STATISTICA.....                                       | 57 |

|  |    |
|--|----|
| <b>4 RISULTATI</b> .....   | 59 |
| 4.1 DATI E SOGGETTI ANALIZZATI.....  | 60 |
| 4.2 IMPATTO PROGNOSTICO A LUNGO TERMINE (10 ANNI) DI SLNB:<br>RISULTATI DELLE ANALISI, DFS E MSS ..... | 61 |
| 4.3 FATTORI PREDITTIVI ASSOCIATI A METASTASI AL LINFONODO<br>SENTINELLA.....                           | 66 |
| 4.4 FATTORI PREDITTIVI DI RECIDIVA E MMS .....   | 66 |
| <br>   |    |
| <b>5 DISCUSSIONE</b> .....   | 69 |
| 5.1 IMPATTO PROGNOSTICO A LUNGO TERMINE (10 ANNI) DI SLNB:<br>RISULTATI DELLE ANALISI, DFS E MSS.....  | 70 |
| 5.2 FATTORI PREDITTIVI DI METASTASI AL LINFONODO SENTINELLA.....                                       | 71 |
| 5.3 FATTORI PREDITTIVI DI RECIDIVA E MMS .....   | 73 |
| <br>   |    |
| <b>6 BIBLIOGRAFIA</b> .....  | 75 |

# **1 INTRODUZIONE**

## 1.1 DEFINIZIONE ED EPIDEMIOLOGIA

Il melanoma è una neoplasia generata dalla trasformazione maligna del melanocita normale, la cellula che producendo melanina è responsabile della pigmentazione cutanea nell'individuo.

I precursori dei melanociti si sviluppano nella cresta neurale durante il primo trimestre di vita fetale, per poi migrare in vari tessuti come cute (più precisamente alla giunzione dermo-epidermica), meningi, occhi e mucose (possono essere colpite le mucose dell'intero tratto gastroenterico, ma la prevalenza va a quelle oro-nasali e ano-genitali), in ognuno dei quali possono manifestare il loro potenziale maligno; comunque, la sede dove più frequentemente questa trasformazione avviene resta la cute.

Il melanoma rappresenta dal 4 al 5% di tutte le neoplasie cutanee.

Attualmente l'incidenza del melanoma sta aumentando maggiormente rispetto a quella di qualsiasi altra patologia maligna, con un tasso complessivo del 23% per le donne e 33% per gli uomini, rispetto al periodo precedentemente osservato 2000-2006<sup>1</sup>.

All'inizio del secolo scorso negli USA il rischio che una persona di pelle bianca venisse colpita da melanoma era approssimativamente di 1:1.500, questo rischio è adesso di circa 1:75.

Si stima che nel 2016 negli USA verranno diagnosticati 76.380 nuovi casi di melanoma e circa 10.130 pazienti moriranno per questa malattia.

Secondo il rapporto 2014 dell'Associazione Italiana Registro Tumori (AIRTum) e Associazione Italiana Oncologia Medica (AIOM)<sup>2</sup> sono 10.800 i nuovi casi attesi in Italia, con una lieve prevalenza per il sesso maschile (5.600 uomini e 5.200 donne).

| Sede   | Uomini  | Donne   |
|--|---------|---------|
| Vie aerodigestive superiori                  | 7.200   | 2.100   |
| Esofago                                      | 1.400   | 600     |
| Stomaco                                      | 8.600   | 5.800   |
| Colon-retto                                  | 29.100  | 22.700  |
| Colon  | 19.900  | 16.400  |
| Retto  | 9.200   | 6.300   |
| Fegato                                       | 8.600   | 3.800   |
| Colecisti e vie biliari                      | 2.100   | 2.500   |
| Pancreas                                     | 6.000   | 6.700   |
| Polmone                                      | 29.500  | 11.400  |
| Osso   | 400     | 300     |
| Cute (melanomi)                              | 5.600   | 5.200   |
| Cute (non melanomi)                          | 42.600  | 30.300  |
| Mesotelioma                                  | 1.300   | 500     |
| S. di Kaposi                                 | 600     | 300     |
| Tessuti molli                                | 1.000   | 900     |
| Mammella                                     |         | 48.200  |
| Utero cervice                                |         | 2.200   |
| Utero corpo                                  |         | 8.300   |
| Ovaio  |         | 4.900   |
| Prostata                                     | 36.300  |         |
| Testicolo                                    | 2.200   |         |
| Rene, vie urinarie*                          | 8.300   | 4.300   |
| Parenchima                                   | 7.000   | 3.700   |
| Pelvi e vie urinarie                         | 1.300   | 600     |
| Vescica**                                    | 20.900  | 4.900   |
| Sistema nervoso centrale                     | 3.200   | 2.600   |
| Tiroide                                      | 4.100   | 12.200  |
| Linfoma di Hodgkin                           | 1.300   | 1.000   |
| Linfoma non-Hodgkin                          | 6.900   | 5.900   |
| Mieloma                                      | 2.700   | 2.500   |
| Leucemie                                     | 4.400   | 3.500   |
| Tutti i tumori, esclusi carcinomi della cute | 196.100 | 169.400 |

**Tabella I<sup>2</sup>:** Numero di nuovi casi tumorali, totale e per alcune delle principali sedi, stimati per il 2014 (Popolazione italiana residente da previsioni ISTAT – [www.demo.istat.it](http://www.demo.istat.it)).

Secondo questo rapporto, il melanoma non rientra tra i cinque tumori più frequentemente diagnosticati sia fra gli uomini sia fra le donne di tutte le età, però se si prendono in considerazione singole fasce, la frequenza e la percentuale rispetto al totale dei tumori cambiano in riferimento al periodo di vita 0-49 anni, raggiungendo il 9% per gli uomini e il 7% per le donne ed elevando questa neoplasia al secondo e terzo posto rispettivamente.

| Rango | Maschi - Età             |                                  |                   | Femmine - Età        |                   |                   |
|-------|--------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
|       | 0-49                     | 50-69                            | 70+               | 0-49                 | 50-69             | 70+               |
| 1°    | Testicolo (12%)          | Prostata (23%)                   | Prostata (20%)    | Mammella (41%)       | Mammella (35%)    | Mammella (21%)    |
| 2°    | Cute (melanomi) (9%)     | Polmone (15%)                    | Polmone (17%)     | Tiroide (14%)        | Colon-retto (12%) | Colon-retto (17%) |
| 3°    | Linfoma non-Hodgkin (8%) | Colon-retto (14%)                | Colon-retto (14%) | Cute (melanomi) (7%) | Utero corpo (7%)  | Polmone (7%)      |
| 4°    | Colon-retto (8%)         | Vescica* (10%)                   | Vescica* (12%)    | Colon-retto (5%)     | Polmone (6%)      | Stomaco (6%)      |
| 5°    | Tiroide (7%)             | Vie aerodigestive superiori (5%) | Stomaco (6%)      | Utero cervice (4%)   | Tiroide (5%)      | Pancreas (6%)     |

**Tabella II<sup>2</sup>:** Primi cinque tumori in termini di frequenza e proporzione sul totale dei tumori incidenti (esclusi i carcinomi della cute) per sesso e fascia di età. Pool Airtum 2007-2010.

Il melanoma cutaneo è un tumore importante nelle classi di età più giovani, infatti oltre il 50% dei casi viene diagnosticato entro i 69 anni.

Esiste una notevole variabilità geografica nell'incidenza del melanoma cutaneo in Italia con un evidente trend decrescente Nord-Sud, con tassi di incidenza fino a quattro volte più bassi nel Meridione rispetto alle altre aree. Si nota un gradiente geografico molto netto, con una differenza di incidenza tra Nord e Centro di -18% negli uomini e -12% nelle donne, mentre con il Sud si ha -48% e -51% rispettivamente. Le popolazioni latine rappresentano un gruppo a basso rischio e con estrema facilità nel produrre melanina in seguito a stimolo con ultravioletti, mentre le popolazioni del Nord Europa presentano un alto rischio e sono generalmente caratterizzate da cute che si ustiona facilmente se esposta al sole.

Ciò potrebbe essere alla base di questa differenza tra le macroaree.

Miglioramenti diagnostici sono alla base di una parte degli aumenti di incidenza riscontrati, soprattutto negli ultimi 10-20 anni. Tuttavia gli incrementi, pur più modesti, nei tassi di mortalità testimoniano che il melanoma cutaneo è effettivamente aumentato nelle popolazioni europee o di origine europea e che le recentissime flessioni nella mortalità, soprattutto nei giovani, sono ascrivibili ai primi risultati favorevoli della diagnosi precoce.

A supporto di questa teoria, i dati riguardo allo spessore dei melanomi diagnosticati indicano un maggior aumento dei tassi di incidenza di quelli sottili rispetto a quelli più spessi. Se andiamo a vedere la distribuzione dei casi incidenti negli anni 1985-1989 e 1999-2003 per lo spessore, il numero di casi ed i tassi di incidenza standardizzati sulla popolazione europea, si

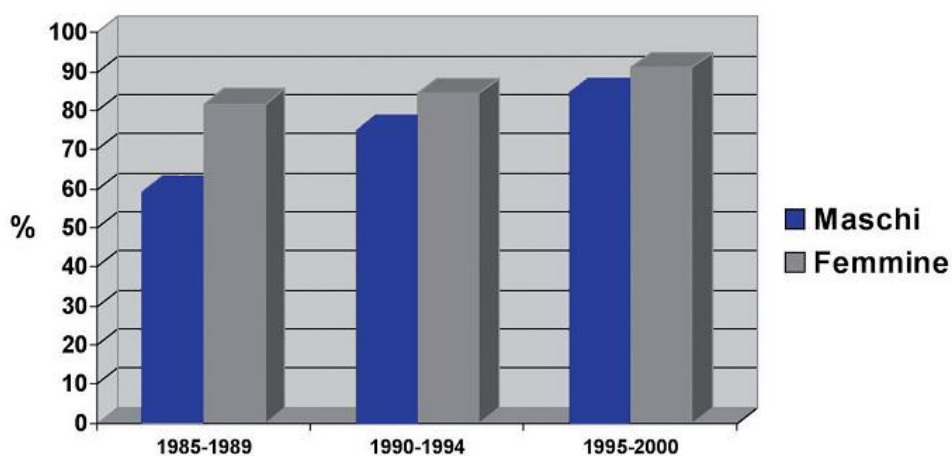
nota, come detto, un raddoppiamento di quelli sottili ( $\leq 1$  mm), passando dal 20,8% al 45,6% del totale. (Tabella III)

|               | 1985-1989  |      |            | 1999-2003  |      |             |
|---------------|------------|------|------------|------------|------|-------------|
|               | n. casi    | %    | Tasso std  | n. casi    | %    | Tasso std   |
| $\leq 1$ mm   | 96         | 20.8 | 1.4        | 447        | 45.6 | 6.4         |
| $> 1$ mm      | 196        | 44.3 | 2.8        | 310        | 31.6 | 3.9         |
| n.s.          | 154        | 34.8 | 2.1        | 223        | 22.8 | 2.9         |
| <b>Totale</b> | <b>442</b> |      | <b>6.3</b> | <b>980</b> |      | <b>13.2</b> |

**Tabella III:** Registro Tumori Toscano, melanoma cutaneo. Distribuzione dei casi incidenti negli anni 1985-1989 e 1999-2003 per spessore ( $\leq 1$  mm,  $> 1$  mm, n.s non specificato), numero di casi e tassi di incidenza standardizzati sulla popolazione europea

Come per la maggior parte dei tumori maligni, la prognosi del melanoma dipende dallo stadio di presentazione della malattia. Negli USA si stima che l'84% dei pazienti si presenti con una malattia localizzata, il 9% con coinvolgimento locoregionale e il 4% con metastasi a distanza. La sopravvivenza relativa (confrontata cioè con quella di una popolazione uguale per sesso ed età, ma indenne da melanoma) a cinque anni è leggermente più elevata nelle donne (89%) che negli uomini (81%), ma con sensibili differenze tra i vari Paesi.

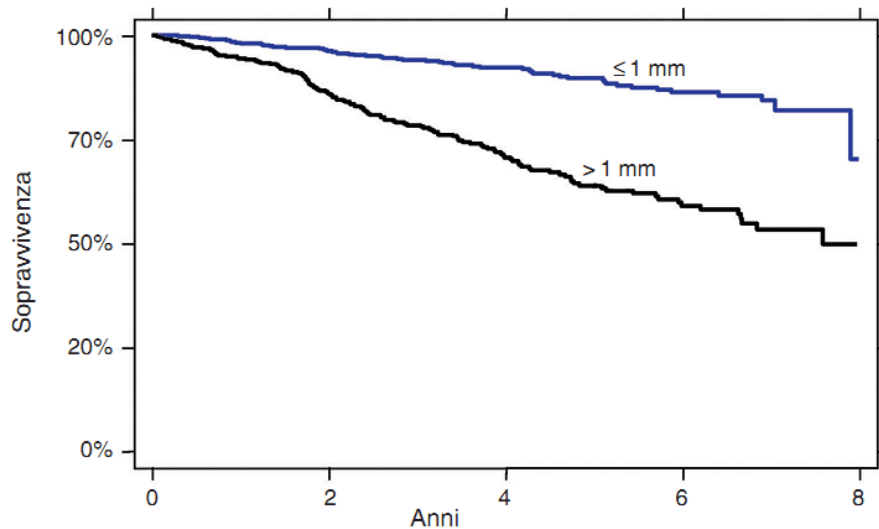
Analizzando il trend della sopravvivenza, si può notare come, considerando i casi diagnosticati tra 1985-1989, 1990-1994 e 1995-2000, la sopravvivenza a cinque anni è costantemente aumentata in entrambi i sessi, soprattutto nei maschi, dove si è passati da 59% all'84%, mentre nelle femmine dall'82% al 91% (Figura 1).



**Figura 1.** Registro Tumori Toscano. Melanoma cutaneo - sopravvivenza relativa a 5 anni (%) per periodo di diagnosi



Dato che nella diagnosi di melanoma la profondità di invasione è il principale fattore prognostico, il miglioramento e l'anticipazione diagnostici probabilmente sono la giustificazione di tale aumento; infatti, dall'analisi dei dati di RTT del periodo 1996-2000 ha evidenziato che la sopravvivenza a 5 anni per melanomi di spessore  $\leq 1$  mm è del 93,9%, mentre quella dei melanomi di spessore  $> 1$  mm è del 65,9%. (Figura 2)



**Figura 2.** Registro Tumori Toscano. Melanoma cutaneo - sopravvivenza per spessore

In base ai dati dell'Atlante della mortalità per tumori in Italia, nel quinquennio 1990-1994 i decessi attribuibili esplicitamente a melanoma sono stati 3178 nei maschi e 2807 nelle femmine, corrispondenti rispettivamente a tassi di mortalità standardizzati di 1,5 e 1,1 per 100.000 abitanti.

Il melanoma, secondo ricerche successive AIRT riferite al periodo 1998-2002<sup>3</sup>, presenta una mortalità in costante aumento, salvo una stabilizzazione nelle donne, specie nel Sud del paese. Dall'osservazione degli andamenti temporali dei tassi standardizzati dagli anni Settanta ad oggi emerge un secondo elemento caratterizzante la mortalità per melanoma, ovvero il mantenimento delle differenze tra aree geografiche, con valori più bassi al Sud e più elevati al Centro-Nord. L'appiattimento delle curve di mortalità risulta visibile solo nella popolazione femminile ed ha avuto inizio nella seconda metà degli anni Ottanta in tutte le aree del paese.

Il vantaggio del Meridione si mantiene anche nei periodi più recenti; infatti, secondo i dati dell'AIRtum 2007-2010, per quanto riguarda la mortalità, esiste una discrepanza tra macro aree, evidenziando una mortalità di -24% negli uomini e -13% nelle femmine tra il Nord e il

Meridione/Isole, mentre si attesta al -24% e +33% rispettivamente tra Settentrione e Centro Italia (Tabella IV).

| Incidenza                                    | Maschi |           | Femmine |           |
|--|--------|-----------|---------|-----------|
|  | Centro | Sud/Isole | Centro  | Sud/Isole |
| Vie aerodigestive superiori                  | -8%    | -17%      | -29%    | -35%      |
| Esofago                                      | -49%   | -47%      | -56%    | -33%      |
| Stomaco                                      | 3%     | -32%      | 14%     | -26%      |
| Colon-retto                                  | 2%     | -15%      | 4%      | -9%       |
| Colon  | 6%     | -9%       | 7%      | 1%        |
| Retto  | -11%   | -29%      | -9%     | -38%      |
| Fegato                                       | -34%   | -9%       | -2%     | 18%       |
| Colecisti e vie biliari                      | -18%   | -12%      | -9%     | 0%        |
| Pancreas                                     | -23%   | -24%      | -23%    | -31%      |
| Polmone                                      | -13%   | -9%       | -19%    | -38%      |
| Osso   | 67%    | 50%       | 0%      | 0%        |
| Cute (melanomi)                              | -24%   | -24%      | 33%     | -13%      |
| Cute (non melanomi)                          | 0%     | 0%        | 0%      | 33%       |
| Mesotelioma                                  | -61%   | -45%      | -66%    | -24%      |
| S. di Kaposi                                 | -73%   | -63%      | -87%    | -42%      |
| Tessuti molli                                | 0%     | -27%      | 11%     | -33%      |
| Mammella                                     | -25%   | 0%        | -17%    | -10%      |
| Utero cervice                                |        |           | 22%     | -11%      |
| Utero corpo                                  |        |           | -20%    | -40%      |
| Utero totale                                 |        |           | 19%     | 13%       |
| Ovaio  |        |           | -14%    | -22%      |
| Prostata                                     | 0%     | -12%      |         |           |
| Testicolo                                    | -50%   | 100%      |         |           |
| Rene, vie urinarie                           | -3%    | -37%      | -8%     | -42%      |
| Vescica                                      | 14%    | 26%       | 0%      | -12%      |
| Sistema nervoso centrale                     | 34%    | 0%        | 22%     | 8%        |
| Tiroide                                      | 0%     | 0%        | -33%    | 0%        |
| Linfoma di Hodgkin                           | 20%    | 20%       | 67%     | 67%       |
| Linfoma non-Hodgkin                          | -19%   | -20%      | -21%    | -18%      |
| Mieloma                                      | -9%    | -3%       | -13%    | 0%        |
| Leucemie                                     | 24%    | 8%        | 22%     | 12%       |
| Tutti i tumori, esclusi carcinomi della cute | -11%   | -15%      | -11%    | -16%      |

**Tabella IV<sup>2</sup>:** AIRTUM: AIRTUM 2007-2010. Tassi di mortalità standardizzati sulla popolazione europea per area geografica e sesso (x 100.000). Differenze percentuali rispetto al Nord.

Ne emerge un quadro complessivo allarmante, rispetto al quale le numerose iniziative di prevenzione, che si intensificano nei mesi primaverili ed estivi, non sembrano ancora avere un impatto sui comportamenti individuali tale da essere visibile nei dati di mortalità. È infine difficile, a tutt'oggi, separare l'effetto dei cambiamenti nelle abitudini di esposizione al sole da quello dovuto ad una maggiore attenzione diagnostica da parte dei dermatologi, che porta ad individuare casi a migliore prognosi e quindi a contenere la mortalità<sup>3</sup>.

## 1.2 FATTORI DI RISCHIO

Numerose evidenze epidemiologiche, cliniche e sperimentali mettono in luce come il rischio di sviluppare il melanoma sia strettamente legato a fattori di carattere ambientale (esogeni) e a fattori di tipo genetico e quindi legati all'individuo (endogeni).

### 1.2.1 Endogeni

#### *Pigmentazione*

La relazione tra rischio di melanoma cutaneo ed alcune caratteristiche fenotipiche delle popolazioni e degli individui è nota da tempo. Uno studio<sup>4</sup> condotto nel 1985 su 904 residenti nelle quattro province del Canada Occidentale, che prendeva in considerazione il colore dei capelli, il colore degli occhi ed il colore della cute non esposta al sole mise in risalto come soggetti con capelli biondi avessero un rischio 7 volte maggiore di sviluppare melanoma rispetto a quelli con capelli neri e soggetti con cute chiara avessero un rischio doppio rispetto a quelli con cute scura.

Inoltre, è stato visto come la presenza di numerose macchie solari, soprattutto in soggetti giovani, comporti un aumento di circa due volte del rischio di melanoma superficiale e nodulare e un aumento di cinque volte il rischio per la lentigo maligna.

Tale aumento di rischio sembra largamente indipendente da pigmentazione e numero di nevi<sup>5</sup>.

#### *Nevi*

I nevi melanocitici sono delle macule, papule o noduli pigmentati acquisiti; sono composti da gruppi di cellule nevice, di derivazione melanocitaria, localizzate a livello epidermico, dermico o talvolta sottocutaneo. Sono fra le neoformazioni più comuni nella popolazione Caucasica, mentre sono meno frequenti nella razza nera o nei fenotipi più scuri, e possono essere assenti nei soggetti con capelli rossi e lentiggini marcate.

Noi distinguiamo diversi tipi di Nevi:

- Nevi Melanocitici Acquisiti (NMA)
- Nevi Melanocitici Congeniti (NMC)
- Nevi Melanocitici Displastici

I Nevi Melanocitici Acquisiti compaiono, solitamente, nella prima infanzia, raggiungendo il numero massimo in giovane età, per poi, attorno ai 60 anni scomparire, per fibrosi della lesione.

Vengono classificati secondo il loro stato evolutivo, quindi secondo la localizzazione istologica, in *Nevi melanocitici Giunzionali, Compositi e Dermici*.

Tutte queste lesioni benigne hanno comunque un diametro inferiore ad 1 cm, importante per la diagnosi differenziale con il Nevo Melanocitico Congenito, il Nevo Displastico o Melanoma.

I *Nevi Melanocitici Congeniti* sono lesioni pigmentate già presenti alla nascita. Meno del 5% sono multipli e solitamente si presentano come ammassi nell'epidermide e nel derma; hanno colore marrone chiaro o scuro, forma ovale. Vengono distinti da un punto di vista delle dimensioni in Piccoli (< 1,5 cm), Medi (1,5 cm – 20 cm) e Giganti (> 20 cm) i quali possono estendersi a muscolo, scheletro, dura madre e cranio. I nevi congeniti comportano un aumento di rischio di sviluppo di melanoma: un melanoma in nevo congenito può insorgere in ogni momento della vita e in nevi di qualsiasi dimensione, anche se la maggior parte di essi nasce su nevi giganti nei primi anni di vita e su nevi piccoli o di dimensioni intermedie quasi esclusivamente in età adulta. L'insorgenza nei bambini è eccezionale e rappresenta circa lo 0.3-0.4% di tutti i melanomi e il 2% di quelli in pazienti di età inferiore a 20 anni. I caratteri morfologici, macroscopici e istopatologici dei melanomi nei bambini non differiscono da quelli che insorgono in età adulta. Per la maggior probabilità dei nevi congeniti, rispetto agli altri nevi, di evolvere a melanoma è consigliato il controllo periodico specialistico.

I *Nevi Melanocitici Displastici* di solito insorgono nella tarda infanzia, immediatamente prima della pubertà e continuano a svilupparsi nel tempo. La diagnosi di NMD è una diagnosi istopatologica e non clinica, evidenziando delle alterazioni architetturali (iperplasia delle creste epidermiche e proliferazione di melanociti sia in aggregati, teche, sia singoli) e citologiche (presenza di nevociti con nuclei irregolari e ipercromici). È fondamentale l'atipia casuale per fare diagnosi<sup>6,7</sup>.

In una metanalisi, è stato evidenziato un aumento del rischio di sviluppare melanomi in pazienti che presentano un elevato numero di nevi (fino a 7 volte per i soggetti con numero di nevi >100), e questo vale sia per i nevi comuni che per quelli atipici, sebbene sia stato osservato un aumento maggiore del rischio nei secondi rispetto i primi.

Altra materia di studio in questa meta-analisi era definire il rischio di sviluppo della neoplasia in base alla sede anatomica dei nevi; si è osservato, infatti, che persone con 11-15 nevi a livello degli arti superiori avevano un rischio aumentato di 5 volte rispetto a quelli senza nevi, quindi la conta dei nevi in base alla sede anatomica correla con il rischio<sup>8</sup>.

In molti studi epidemiologici si è evidenziato che la densità dei nevi è correlata con l'intensa esposizione al sole ed una storia di scottature. La relazione tra nevi, esposizione alla luce solare ed il fenotipo è molto complessa, ma è stato visto che, se i soggetti che tendono a scottarsi (capelli biondi, pelle chiara ecc.) evitano l'esposizione al sole, sviluppano meno nevi di quanto ci si aspetti<sup>9</sup>.

Un recente studio<sup>10</sup> ha suggerito un'ipotesi interessante sull'esposizione al sole e la trasformazione dei nevi in melanomi, in base ai diversi siti corporei. Si è constatato che i melanomi della testa e del collo sono più frequenti nei soggetti che hanno pochi nevi, molta cheratosi solare e che hanno presentato alti livelli di esposizione solare per motivi professionali. Diversamente, melanomi dello stesso tipo istologico derivanti dal tronco, tendono a presentarsi in persone con molti nevi, poca cheratosi solare ed esposti al sole per meno tempo. Ciò ha suggerito come i primi per sviluppare un melanoma necessitano della presenza costante della luce solare (esposizione solare cronica), per guidare il processo neoplastico, oltre che di iniziazione, mentre i secondi, necessitano di poca esposizione solare.

### *Predisposizione familiare*

Il melanoma familiare costituisce oggi circa il 10% di tutti i melanomi. In soggetti con melanoma familiare sono stati individuati due geni responsabili:

- 1) CDKN2A (p16) sul cromosoma 9p21 nel 25% dei casi; questo gene codifica per un oncosoppressore, inibitore delle chinasi ciclina-dipendente, quindi in sua mancanza viene meno un controllo negativo sulla proliferazione cellulare. Alterazioni del gene p16 sono state osservate in malati affetti da melanoma familiare, in soggetti con numerosi nevi melanocitici piani acquisiti ed anche in malati con melanomi primitivi multipli: ciò suggerisce che esista una suscettibilità genetica allo sviluppo della neoplasia;
- 2) CDK4, presente solo in alcune famiglie; questa mutazione altera il sito di aggancio della proteina che interagisce con p16 con conseguente deregolazione del ciclo cellulare.

In base a questi dati non vi è ad oggi indicazione ad eseguire routinariamente dei test genetici nel sospetto di melanoma familiare<sup>11</sup>.

## **1.2.2 Esogeni**

### *Esposizione al sole*

L'esposizione al sole è considerata la principale causa del melanoma cutaneo<sup>12</sup>. Ne sono prova la distribuzione del melanoma a livello mondiale, gli andamenti globali e per sede anatomica nel tempo, nonché la recente dimostrazione di lesioni del DNA specificamente indotte da radiazioni ultraviolette (UV) nelle cellule melanomatose. È stato visto come frequenti scottature, in particolare nell'infanzia<sup>13,14,15</sup>, ma anche dopo i 19 anni<sup>16</sup> aumentino il rischio di melanoma cutaneo<sup>17,18</sup>. Inoltre sta iniziando ad essere chiaro come certi patterns di esposizione solare siano associati a differenti rischi, per esempio soggetti esposti alla luce solare per molto tempo, come i contadini, mostrano un aumento dell'incidenza dei tumore della cute non-melanomatosi, come Carcinoma Spinocellulare e Carcinoma Basocellulare<sup>19</sup>. Invece, il rischio di sviluppare il melanoma cutaneo è associato all'esposizione intermittente al sole, specialmente in caso di scottature<sup>14,15,18,19,20</sup>. Le modalità con cui l'esposizione intermittente al sole aumenta il rischio di melanoma non sono del tutto chiare. Diversi dati suggeriscono che il sole sia importante per l'induzione e, forse, per la trasformazione dei nevi.

Anche l'utilizzo di lettini solari è stato analizzato, soprattutto in rapporto all'aumentato uso tra la popolazione; alcuni studi hanno dimostrato una non relazione tra l'uso dei lettini abbronzanti e lo sviluppo del melanoma<sup>13,15</sup>, mentre altri studi hanno dimostrato l'associazione, soprattutto quando vi è una scottatura<sup>20,21</sup>.

Si pensava che i tipi di raggi ultravioletti responsabili dell'induzione delle neoplasie cutanee potessero essere esclusivamente gli UV-B; negli ultimi anni, al contrario, è diventato sempre più chiaro che anche l'esposizione ai raggi UV-A potrebbe contribuire allo sviluppo del melanoma<sup>22</sup>. Nel 1992, infatti, gli UV-A sono stati riclassificati come Agenti Carcinogenetici 2A dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro<sup>23</sup> e ciò ha avuto degli importanti risvolti per coloro che usano i lettini solari; basti pensare che fino al 1980 questi emettevano radiazioni UV-B, mentre da allora sono stati modificati per emettere primariamente UV-A, nel tentativo di ridurre il rischio di scottature e tumori cutanei.

Uno studio afferma la non associazione tra il melanoma e l'uso di lettini solari dopo il 1980, dimostrato dal lungo periodo di latenza tra l'esposizione e la comparsa dei sintomi della malattia<sup>20</sup>, mentre altri autori dimostrano un rischio relativamente alto di sviluppare melanoma in pazienti più giovani di 30 anni che hanno una storia di più di 10 esposizioni ai lettini solari all'anno, in apparecchiature progettate dopo il 1980<sup>24</sup>.

### *Fotoprotezione*

È dimostrato che l'esposizione alla radiazione UV solare può provocare danni alla pelle (fotoinvecchiamento e tumori cutanei) e agli occhi (fotocheratoconguntiviti, cataratta, ecc.). La radiazione UV presente al suolo è composta per circa il 95% di UV-A e per il 5% circa di UV-B. L'intensità della radiazione UV varia con la stagione, la latitudine, l'altitudine e l'ora del giorno. Alle nostre latitudini, il 60% circa delle radiazioni UV è presente nelle quattro ore centrali rispetto a mezzogiorno.

Delle tre regioni spettrali della radiazione UV (A, B, e C), la radiazione UV-A è 100-1.000 volte meno efficace di quella UV-B ad indurre effetti a breve termine (es. eritema). Viceversa, quella UV-A risulta, per la sua maggior penetrazione, più attiva di quella UV-B nell'indurre il fotoinvecchiamento della pelle.

L'uso delle creme solari è stata una strategia a lungo sostenuta per ridurre il rischio di sviluppare tumori della pelle e ci sono delle evidenze a conferma che il loro corretto uso prevenga le scottature<sup>25,26</sup> e ritardi lo sviluppo di cambiamenti cutanei età-correlati<sup>27,28,29</sup>. È interessante notare, però, come ci sia una carente evidenza scientifica ed epidemiologica del fatto che l'uso regolare di creme solari possa prevenire lo sviluppo del melanoma cutaneo. A riprova di quanto detto si è visto come in diversi paesi, tra cui USA e Australia, che hanno prontamente applicato l'uso regolare delle creme solari, in realtà si sia registrato un aumento dell'incidenza del melanoma<sup>30,31</sup>. Paradossalmente, dunque, questi risultati hanno sollevato la preoccupazione che l'uso delle creme solari protettive possa promuovere lo sviluppo del melanoma incoraggiando l'esposizione prolungata al sole<sup>32,33</sup> (oltre a ciò è stato dimostrato, da studi di Stokes e Diffey<sup>34</sup>, che in realtà viene applicata meno crema rispetto la quantità raccomandata di 2 mg/cm<sup>2</sup>, ottenendo una protezione media dal 20% al 50% del prodotto stesso).

Alcuni studi effettuati da Garland<sup>33</sup> et al e Marks et al<sup>35</sup> hanno suggerito che le creme solari potrebbero aumentare il rischio di melanoma, perché impediscono la produzione di vitamina D, indotta dai raggi ultravioletti (non esiste, di fatto, alcuna prova che l'uso delle creme solari determini una riduzione della vitamina D).

Inoltre, l'assottigliamento dello strato di ozono stratosferico ha suscitato di recente notevole attenzione per le possibili conseguenze di questo fenomeno sul rischio di tumori cutanei. Nonostante il problema sia rilevante per il suo impatto sul clima e su vari ecosistemi, la modesta riduzione dello strato di ozono, registrata in limitati periodi dell'anno alle nostre latitudini, è trascurabile nei confronti del rischio di melanoma.

Rispetto all'esposizione solare, un aspetto da tenere in considerazione è il fototipo del soggetto esposto; la popolazione, infatti, può essere suddivisa in 5 fototipi che presentano diverso e decrescente rischio di melanoma<sup>36</sup>, dal fototipo 1 (Capelli biondo-rossi, occhi chiari, carnagione

molto chiara con efelidi, estremamente sensibile, si scotta sempre al sole e non si abbronzia) al fototipo 5 (Capelli neri, carnagione nera).

Il rischio di melanoma è particolarmente alto se l'eccessiva esposizione avviene in età giovanile quindi una corretta prevenzione primaria deve essere impostata fin dalla nascita.

Le attività di prevenzione primaria, con il fine di ridurre l'incidenza della neoplasia, e le campagne di prevenzione secondaria sono fondamentali per ridurre la mortalità da tumore.

Il documentato miglioramento della prognosi e la continua riduzione dell'incremento della mortalità da melanoma sono fenomeni da riferire solo all'attività di prevenzione secondaria. Lo screening selettivo rappresenta il migliore presidio di prevenzione secondaria dei tumori ed è diretto ai soggetti a rischio con familiarità per melanoma, cute pallida che non si abbronzia e si scotta al sole, alto numero di nevi comuni o presenza di più nevi atipici, portatori di lesioni pigmentate che si modificano o presentano aspetti di asimmetria, bordi dentati, colorito molto scuro o policromia, dimensioni superiori a 6 mm (A, B, C, D, E del melanoma)<sup>37,38</sup>.

### **1.3 DIAGNOSI CLINICA**

Il melanoma può insorgere su cute sana, oppure da nevo melanocitico<sup>19</sup>.

Una visita finalizzata alla diagnosi del melanoma cutaneo esige, per essere condotta in modo corretto, l'osservazione delle seguenti norme:

- Il paziente deve essere completamente spogliato e si deve ispezionare tutto l'ambito cutaneo e le mucose visibili, in particolare tutte quelle parti inaccessibili all'autoanalisi (il cuoio capelluto, i padiglioni auricolari e la regione retroauricolare, la congiuntiva oculare, la mucosa orale, il solco intergluteo e la regione perianale, i genitali, gli spazi interdigitali e la pianta dei piedi, il letto ungueale)
- La visita deve essere condotta in un ambiente adeguatamente illuminato, possibilmente in piena luce diurna o con lampade fluorescenti a 3200-3400 Kelvin
- Nei casi con diagnosi incerta possono trovare utile impiego sistemi ottici di magnificazione dell'immagine (dalla semplice lente d'ingrandimento ai sistemi digitali) o la dermatoscopia (indispensabile per discriminare lesioni < 1 cm<sup>11</sup>).
- L'esame clinico delle lesioni cutanee e la palpazione sistematica dei linfonodi devono essere effettuati prima dell'asportazione della lesione primitiva, eseguita a scopo



diagnostico o terapeutico. La presenza di linfonodi metastatici o sospetti tali condiziona, infatti, la successiva condotta terapeutica.

La diagnosi clinica di melanoma è solitamente difficoltosa ed è condizionata dall'esperienza dell'osservatore, con una sensibilità che va dal 50% all'85%<sup>39</sup>.

Le caratteristiche delle lesioni nevice benigne possono essere così elencate:

- la simmetria, la forma è armonica, rotondeggiante ovalare;
- i bordi sono regolari, a limiti netti con la cute sana circostante;
- il colore delle singole lesioni può variare dal marrone chiaro al nero nello stesso soggetto, ma il singolo nevo ha sempre una tonalità di colore uniforme;
- la dimensione è nella grande maggioranza inferiore ai 6 mm;
- l'evoluzione della lesione è lenta e progressiva nel tempo e di regola non è avvertita dal paziente

Il discostarsi di una lesione pigmentaria da una o più di queste caratteristiche può costituire un segnale di allarme utilizzabile per sospettare la lesione maligna.

La diagnosi clinica del melanoma è solo ispettiva e non è del tutto semplice. Per aiutare i clinici nella diagnosi del melanoma maligno cutaneo sono state proposte diverse linee guida, le più interessanti delle quali sono la regola ABCDE proposta dall'American Cancer Society e la classificazione di Glasgow in sette punti.

La *regola ABCDE* suggerisce una attenta analisi di lesioni associate con almeno una delle seguenti caratteristiche:

- A. **ASIMMETRIA**: non sovrapponibilità delle due metà idealmente ottenute da una linea che sezioni la lesione nel centro.
  - B. **BORDI**: irregolari, indentati, frastagliati a carta geografica.
  - C. **COLORE**: è la caratteristica più importante, può essere francamente nero, uniforme o variegato, con sfumature che vanno dal grigio scuro al marrone o al bluastro; nel contesto della macchia possono essere presenti zone di cute normalmente pigmentata o un'area depigmentata più chiara che corrisponde al fenomeno della regressione.
  - D. **DIMENSIONI**: maggiori di 6 mm, anche se il riconoscimento in fasi sempre più precoci ha portato al riscontro di lesioni con diametro inferiore ai canonici 6 mm.
  - E. **EVOLUZIONE**: la lesione è in evidente progressione, sta cambiando la sua normale morfologia; è il criterio più importante per sensibilizzare la popolazione al fine di una diagnosi precoce e di un miglioramento della prognosi.
- ETÀ: di regola superiore ai 15 anni.

ELEVAZIONE: comparsa di una papula o di un nodulo nel contesto della lesione pigmentata.

La *classificazione di Glasgow* propone di valutare qualsiasi lesione cutanea che sia associata con almeno una delle seguenti variabili maggiori o minori<sup>40,41</sup>:

Variabili maggiori (2 punti ciascuno):

- Cambiamento delle dimensioni
- Cambiamento dell'aspetto
- Cambiamento del colore

Variabili minori (un punto ciascuno):

- Infiammazione
- Presenza di crosta o sanguinamento
- Presenza di sintomatologia
- Dimensioni maggiori di 6 mm

Dei due sistemi quello di Glasgow è il più adatto come informazione per la popolazione generale, mentre il sistema ABCDE è più utile al medico<sup>42,43</sup>.

Di regola, seguendo la Classificazione di Glasgow, una volta superati i 3 punti è indicato eseguire una consulenza specialistica o una escissione<sup>44</sup>.

## **1.4 LA DERMATOSCOPIA**

(sinonimi: dermoscopia, microscopia in epiluminescenza, microscopia cutanea di superficie)

Per una diagnosi precoce e non invasiva del melanoma un importante strumento di ausilio è il dermatoscopio che permette di visualizzare le caratteristiche morfologiche degli strati

superficiali della cute (dal corneo fino al derma superficiale), non altrimenti apprezzabili ad occhio nudo, in modo da poter giudicare se una lesione pigmentata sia più o meno sospetta.

L'utilizzo della dermatoscopia ha migliorato la fase diagnostica del melanoma, anche di lesioni molto precoci che con la sola ispezione non erano rilevabili<sup>45,46</sup>.

L'osservazione dermatoscopica avviene su un piano frontale, mentre l'esame istologico si svolge su un piano sagittale; nonostante questa differenza esiste una discreta correlazione fra caratteristiche dermoscopiche e strutture istologiche, tale da definire una vera e propria semeiotica dermatoscopica utile a livello diagnostico.

Il confronto di efficienza diagnostica dell'esame clinico effettuato su immagini fotografiche con quella della dermatoscopia ha dimostrato che l'impiego di questa tecnica da parte di un osservatore esperto si accompagna ad un incremento della percentuale di diagnosi corrette che varia secondo il tipo di lesione, con un miglioramento diagnostico medio di circa il 10-25%<sup>47,48,49,50,51</sup>.

La microscopia in epiluminescenza può essere eseguita con diverse strumentazioni ottiche, ma quella più frequentemente utilizzata è il dermatoscopio manuale portatile, delle dimensioni di un otoscopio, con ingrandimento fisso a 10x. Per centri specializzati, invece, è riservato l'uso dello stereomicroscopio (ingrandimento 6x-40x). Oggi si può usare anche il videodermatoscopio, costituito da una sonda (telecamera) collegata ad un computer mediante fibre ottiche, una strumentazione che permette la archiviazione digitale per la mappatura dei nevi, in modo da poter evidenziare eventuali modificazioni ai controlli successivi, e che rende possibile la trasmissione a distanza dell'immagine (teledermatoscopia)<sup>50</sup>.

Alcuni parametri dermatoscopici sono specifici delle lesioni di natura melanocitaria (reticolo pigmentario, globuli marroni, strie radiali, pseudopodi), mentre altri si possono ritrovare in lesioni pigmentate sia melanocitarie che non melanocitarie. Nessuno di essi è tuttavia specifico di malignità, pertanto la diagnosi dermatoscopica del melanoma non può fondarsi sulla identificazione di un singolo parametro, bensì deve essere il risultato di un'analisi di pattern, che deve tenere conto di più parametri dermatoscopici<sup>52</sup> e la cui efficienza diagnostica risente grandemente dell'esperienza dell'osservatore.

## **1.5 CLASSIFICAZIONE CLINICA DEL MELANOMA CUTANEO<sup>91</sup>**

L'aspetto clinico del melanoma cutaneo è legato alla sua fase di sviluppo e, almeno in parte, al suo istotipo. Infatti, pur essendo una malattia unica, si sviluppa in tempi diversi attraverso vari stadi di progressione in cui presenta aspetti clinici ed istologici diversi. Il clinico, tuttavia, di fronte a una lesione pigmentata può solo descriverne la morfologia, distinguendo un melanoma piano, un melanoma cupoliforme ed un melanoma piano-cupoliforme.

### **1.5.1 Melanoma piano**

Il melanoma piano presenta due aspetti clinici che generalmente si susseguono: il melanoma piano non palpabile e il melanoma piano palpabile. Si presenta come una lesione di forma irregolare, di dimensioni solitamente superiori ai 6 mm. È la variante più frequente (80%) che può insorgere in qualsiasi sede cutanea e mucosa e che è distinguibile per la forma irregolare, collegata ad una “crescita orizzontale”, in senso centrifugo, secondo quanto dichiarato dal paziente in sede di anamnesi. La formula ABCDE del melanoma riassume le caratteristiche semeiologiche, che permettono il sospetto diagnostico e che sono confrontabili per contrasto con quelle dei nevi melanocitici comuni.

#### ***Melanoma piano “non palpabile”***

Di dimensioni molto piccole al tronco ed agli arti (melanoma piano maculare, istotipo: melanoma non invasivo a diffusione superficiale), può diventare molto più grande (melanoma piano in chiazza) al viso (istotipo: melanoma non invasivo tipo lentigo maligna), in regione palmo-plantare (istotipo: melanoma non invasivo tipo acrale-lentiginoso) ed alle mucose (istotipo: melanoma non invasivo tipo mucoso-lentiginoso). In questa fase è dotato di aggressività biologica molto modesta. Se asportato chirurgicamente in modo adeguato, porta alla guarigione clinica del paziente nella quasi totalità dei casi.

Le caratteristiche semeiologiche dell'ABCDE precedentemente descritte possono essere tutte presenti o presenti solo in parte. In particolare può mancare il criterio dimensionale (indicato con la lettera D).

#### ***Melanoma piano “palpabile”***

La lesione appare leggermente rilevata sul piano cutaneo, con dimensioni che possono essere di diametro inferiore ad 1 cm (melanoma piano papuloso) od arrivare fino a molti cm (melanoma piano in placca). Gli istotipi correlati a questa manifestazione clinica appartengono al gruppo dei melanomi invasivi con evidenza di fase di crescita orizzontale.

Sono presenti, accentuate, le caratteristiche morfologiche precedentemente descritte per la fase maculare, come la forma asimmetrica, i bordi con andamento irregolare e il colore disomogeneo, con superficie talora erosa o desquamante.

In questa fase si comincia a vedere il fenomeno della regressione spontanea, evidenziato dalla comparsa nel contesto del tumore di aree ipotrofiche di colorito bianco-grigiastro o del colore della pelle normale. Talvolta la regressione può essere totale, relikando soltanto un'area ipocromica con la forma della neoplasia originale. La diagnosi di melanoma in questo caso si pone solo quando si evidenziano metastasi linfonodali o sistemiche.

### **1.5.2 Melanoma cupoliforme**

Meno frequente (circa il 18% dei casi), compare su cute sana con localizzazione ubiquitaria e tende ad accrescersi prevalentemente in altezza (cosiddetta "crescita verticale"). Si presenta come una papula od un nodulo, di forma regolare emisferica, a superficie liscia, di colorito bruno-nerastro o nero-bluastro, di consistenza carnosa, spesso eroso e sanguinante, ricoperto da squamo-croste ematiche e mantiene confini sempre netti con la cute sana circostante. Il pigmento può essere distribuito in modo irregolare fino ad essere del tutto assente (melanoma acromico): in questo caso, ad un esame clinico attento, è individuabile talvolta alla base della lesione una sfumatura nerastra ("fuga del pigmento") di grande aiuto per la corretta diagnosi clinica. La formula dell'ABCDE è, in questa forma, di scarsa utilità. L'istotipo correlato a questa manifestazione clinica è il melanoma nodulare (melanoma invasivo senza evidenza di fase di crescita orizzontale)

### **1.5.3 Melanoma piano-cupoliforme**

L'insorgenza di un elemento papuloso o nodulare nel contesto di un melanoma piano palpabile o non palpabile costituisce un evento molto frequente che si realizza spesso anche dopo anni dalla comparsa della lesione primitiva. Rappresenta quindi un aspetto evolutivo della neoplasia. Gli istotipi correlati a questa manifestazione clinica appartengono al gruppo dei melanomi invasivi con evidenza di fase di crescita orizzontale.

Tutte le varianti cliniche possono essere circondate da "satelliti": piccoli noduli tumorali bruno-nerastri o acromici perilesionali, considerati metastasi locali a propagazione linfatica.

## **1.6 ASSOCIAZIONE NEVO MELANOCITICO-MELANOMA19**

Il melanoma può insorgere, oltre che su cute sana, su un nevo melanocitico congenito od acquisito od in contiguità con esso. La frequenza di questa associazione è valutata intorno al 20-50% dei casi.

I possibili segnali di allarme di associazione del nevo con il melanoma sono:

- modificazione del colore
- improvvisa comparsa di una lesione rilevata (papula o nodulo)
- rapido aumento della dimensione o dello spessore
- erosione, gemizio sieroso, sanguinamento
- formazione conseguente di croste siero-ematiche od ematiche
- segni di flogosi
- comparsa di sintomi soggettivi (prurito, senso di trafittura).

Cambiamenti di forma e di colore possono peraltro verificarsi in un nevo melanocitico anche per cause di natura benigna (follicolite intranevica, esposizione al sole, gravidanza, traumi accidentali ecc.).

## **1.7 CONFERMA DIAGNOSTICA MEDIANTE BIOPSIA**

I casi di melanoma clinicamente e dermoscopicamente certi possono essere trattati con una adeguata exeresi chirurgica e successivo esame istologico.

Nei casi dubbi si deve procedere all'asportazione in toto della lesione con margine di cute sana non eccedente gli 1-2 mm<sup>53</sup> (biopsia escissionale). È importante rispettare queste caratteristiche, a ragione della sempre crescente richiesta di eseguire la biopsia del linfonodo sentinella.

Ci sono delle condizioni, come la sede della lesione (volto, regione palmare, pianta del piede, regione subungueale, orecchio...) o la dimensione della stessa, che rendono difficoltosa la biopsia escissionale, sia da un punto di vista estetico, che da un punto di vista funzionale (altera il drenaggio linfatico, quindi l'eventuale biopsia del linfonodo sentinella). Per queste ragioni viene eseguita la Biopsia Incisionale, che prevede la biopsia a tutto spessore a livello del punto più spesso della lesione. Attraverso questa procedura si può effettuare la microstadiazione, senza interferire con la terapia locale definitiva. Nel caso in cui la biopsia in questa fase si dovesse rivelare insufficiente, ne è raccomandata una seconda<sup>11</sup>. È stato dimostrato come la biopsia incisionale non condizioni la prognosi del paziente<sup>54,55</sup>.

È da evitare l'esame estemporaneo perioperatorio, su sezioni istologiche eseguite al microtomo criostato, di lesioni pigmentate cutanee clinicamente sospette per melanoma.

Coerente con l'American Academy of Dermatology (AAD) Task Force, le raccomandazioni della NCCN sono di includere nella biopsia l'Indice mitotico, accanto ad altri fattori addizionali, ossia l'Infiltrazione linfocitaria (TIL), fase di crescita verticale e regressione<sup>56,57</sup>.

## 1.8 DIAGNOSI ISTOPATOLOGICA

La valutazione istopatologica inizia con l'esame del pezzo operatorio (valutazione macroscopica), che deve giungere al laboratorio integro e formalizzato; di ogni lesione vengono analizzate le seguenti caratteristiche:

- dimensione della lesione
- caratteristiche della lesione: forma, colorazione, configurazione (rilevata, scavata, ulcerata), margini (netti o mal definiti, piani o rilevati), eventuale presenza di noduli satelliti o di metastasi in transit
- distanza dai margini di resezione<sup>58</sup>.

In seguito viene effettuata la valutazione microscopica e il fissativo consigliato è la formalina neutra tamponata (pH 7). Per studi particolari (immunocitochimica, microscopia elettronica, genetica, ecc.) può essere necessario eseguire prelievi a fresco, talora sterili, da stoccare a -80°C, facendo precedere un passaggio in azoto liquido. Vengono inoltre utilizzati dai patologi alcuni anticorpi, ma nessuno di questi da solo è in grado di differenziare una lesione pigmentata benigna da una maligna; alcuni anticorpi (proteina S-100, HMB 45, Mel 1, KBA. 62, NK1 beteb, A/MART1, ecc.) possono essere utili per la diagnosi istopatologica, in particolare di lesioni melanocitarie acromiche.

Gli istotipi sono cinque, dei quali quattro presentano una fase di crescita orizzontale confinata alla sola epidermide, seguita poi da una fase di crescita verticale che implica invasione del derma (melanoma a diffusione superficiale, lentigo maligna, melanoma acrale-lentiginoso e melanoma mucoso-lentiginoso); il quinto istotipo presenta fin dall'inizio solo crescita verticale (melanoma nodulare).

La diagnosi istopatologica deve comprendere:

*Requisiti minimi*

- diagnosi di melanoma: se intraepiteliale (in situ) o invasivo (in fase di crescita orizzontale o verticale)
- istotipo
- spessore di invasione (secondo Breslow)
- regressione
- distanza dal margine di resezione

#### *Requisiti raccomandati*

- livello di invasione (secondo Clark)
- ulcerazione
- infiltrato linfocitario intra e peritumorale
- invasione vascolare
- indice mitotico
- neurotrofismo

### **1.8.1 Classificazione istologica del melanoma**

#### **I. Melanoma non invasivo**

- *Melanoma non invasivo a diffusione superficiale (pagetoide) o melanosì premaligna*
- *Melanoma non invasivo tipo lentigo maligna (lentigo maligna di Hutchinson-Dubreuilh)*
- *Melanoma non invasivo tipo acrale-lentiginoso*
- *Melanoma non invasivo tipo mucoso-lentiginoso*

#### **II. Melanoma invasivo con evidenza di fase di crescita orizzontale:**

- *Melanoma a diffusione superficiale*
- *Melanoma tipo lentigo maligna*
- *Melanoma tipo acrale-lentiginoso*
- *Melanoma tipo mucoso-lentiginoso*

#### **III. Melanoma invasivo senza evidenza di fase di crescita orizzontale:**

- *Melanoma nodulare*

#### ***Melanoma non invasivo***

Il melanoma non invasivo (o in situ) è un melanoma confinato all'epidermide, cioè senza evidenza di invasione dermica da parte dei melanociti neoplastici. I quadri sia clinici sia



istopatologici sono differenti, ma dal punto di vista prognostico sono simili, dato che si può parlare di guarigione clinica in caso di asportazione totale. L'estensione intraepiteliale può essere:

1. Pagetoide: caratterizzata da una proliferazione discontinua di melanociti, isolati o a nidi, nell'epidermide sino agli strati più superficiali (determinando il fenomeno definito “eliminazione transepidermica”)
2. Lentiginosa: caratterizzata dalla proliferazione di melanociti atipici, grandi, pleomorfi, lungo lo strato basale dell'epidermide (con un pattern di crescita analogo a quello della lentigo simplex) e degli annessi (peli, ghiandole sudoripare).

### ***Melanoma invasivo con fase di crescita orizzontale***

Il melanoma invasivo in fase di crescita orizzontale è caratterizzato da una proliferazione intraepiteliale simile a quella del melanoma non invasivo e dalla presenza di singoli melanociti atipici o piccoli nidi (spesso non superiori a 20 cellule), che infiltrano la porzione più superficiale del derma papillare, perdendo la loro capacità di proliferare, potendo andare incontro ad apoptosi, regredire o persistere. Un melanoma con tale tipo di crescita ha limitate capacità metastatiche per tale motivo l'asportazione chirurgica spesso porta a guarigione clinica<sup>59</sup>.

### ***Melanoma a diffusione superficiale (Figura 3)***

È l'istotipo più frequente (due terzi dei casi) ed è possibile trovarlo in ogni sede cutanea e mucosa, anche se predilige il tronco negli uomini e gli arti inferiori nelle donne di età compresa tra i 30 – 50 anni.

Le lesioni sono generalmente piane o lievemente rilevate ed il colore può variare dal marrone scuro a chiaro; la comparsa di sfumature bluastre indica spesso invasione, mentre sfumature bianche regressione. La forma è irregolare ed il profilo è spesso frastagliato.

La micro-invasione del derma da parte dei melanociti neoplastici può essere clinicamente inapparente, mentre l'insorgenza di un nodulo su una preesistente lesione piatta deve essere temuto come una fase di crescita verticale.

Dal punto di vista clinico il melanoma a diffusione superficiale nella sua fase iniziale è difficile da distinguere da un nevo.



**Figura 3:** *Melanoma a diffusione superficiale*

***Melanoma tipo lentigo maligna (Figura 4)***

Il melanoma tipo lentigo maligna costituisce il 5-10% di tutti i melanomi; rappresenta il prototipo di melanoma associato chiaramente al danno cumulativo del DNA, conseguente all'esposizione cronica al sole, per cui le sedi privilegiate sono volto e dorso delle mani. Si sviluppa nel contesto di una lentigo maligna dopo 10-15 anni dalla sua comparsa; questa si presenta come una lesione piatta ed irregolare (crescita orizzontale), ma quando su di essa compare un nodulo (crescita verticale), questo è sempre segno di invasione, trasformandosi in melanoma. Solo il 5-10% delle lesione pre-maligne si trasformano in melanoma.



**Figura 4:** *Melanoma tipo lentigo maligna*

### ***Melanoma tipo acrale-lentiginoso***

È il tipo di melanoma meno comune nei soggetti di razza bianca (2-8%), mentre è il più frequente nella razza nera e orientale (variabile dal 30% al 70%). Compare esclusivamente sui palmi delle mani, sulle piante dei piedi e sotto le unghie. Questa forma in genere non si associa a nevo preesistente e insorge su cute non esposta alle radiazioni solari. Nella sua componente proliferativa orizzontale è caratterizzato da un pattern di crescita lentiginoso (i melanociti neoplastici sono generalmente singoli ed allineati alla giunzione dermo-epidermica, analogamente a quanto si osserva nelle lentiggini), mentre quando compare un nodulo su una lesione piatta è segno di invasività.

### ***Melanoma tipo mucoso-lentiginoso***

Questo melanoma insorge nella mucosa orale, nasale, seni nasali, vagina, esofago e mucosa anorettale.

Ha le stesse caratteristiche dell'acrale-lentiginoso, ma predilige le sedi mucose.

### ***Melanoma invasivo senza fase di crescita orizzontale***

Il melanoma invasivo con fase di crescita verticale è caratterizzato da una penetrazione da parte delle cellule neoplastiche insorte nell'epidermide, nel derma, formando dei noduli che sollevano la cute; la popolazione neoplastica intradermica differisce spesso da quella localizzata nell'epidermide da un punto di vista della forma, grandezza ed attività mitotica, oltre che citologico. Un melanoma con queste caratteristiche è facilitato nella capacità metastatica<sup>59</sup>.

### ***Melanoma nodulare (Figura 5)***

Con il termine di melanoma nodulare si definisce un tumore che evolve fin dall'inizio con modalità di crescita verticale, caratterizzato dalla comparsa di un nodulo; è il sottotipo di melanoma a più elevata aggressività.

È il secondo sottotipo più comune nella razza bianca (10-20% di tutti i melanomi) e compare in età più avanzata rispetto a quello a diffusione superficiale. Insorge spesso in aree del corpo esposte in modo intermittente alla luce solare, più spesso sul tronco e sulle gambe, ma anche sul capo e collo.

Questo melanoma è caratterizzato per definizione da melanociti neoplastici che infiltrano il derma. Si presenta solitamente come un nodulo pigmentato a rapida crescita, ma può essere anche senza melanina (amelanotico o acromico).

La neoplasia è composta da aggregati di melanociti atipici che in modo variabile infiltrano il derma papillare, reticolare sino anche ad infiltrare il tessuto fibroadiposo sottocutaneo. Spesso sono presenti ulcerazione, sanguinamento.



**Figura 5:** Melanoma Nodulare

## **1.9 PROGRESSIONE TUMORALE E FATTORI PROGNOSTICI**

Nello sviluppo del melanoma, da una fase iniziale di proliferazione prevalentemente piatta, che si estende lungo il raggio di una circonferenza irregolare, si passa ad una fase di crescita verticale, perpendicolare alla precedente con estensione in profondità. La prima fase di crescita orizzontale è caratterizzata, istologicamente, da una proliferazione intraepiteliale di melanociti atipici (melanoma in situ) o da un'iniziale infiltrazione del derma papillare. In tale fase il melanoma anche se invasivo (microinvasivo) dimostra una prognosi buona. La comparsa della fase di crescita verticale, caratterizzata da una proliferazione espansiva dermica, non è una semplice estensione della neoplasia in profondità, ma è la comparsa di un nuovo aspetto morfologico e di nuove caratteristiche biologiche nel melanoma il quale acquista capacità tumorigeniche con possibilità di diffusione; ovviamente più tale fase è avanzata, più è maggiore lo spessore del melanoma e quindi peggiore sarà la prognosi.

Il concetto di progressione tumorale è anche la base per la classificazione dei melanomi, oltre che per la definizione della prognosi (microstadiazione). Infatti i differenti istotipi vengono definiti dalla presenza o meno della fase orizzontale e dalle sue caratteristiche morfologiche istopatologiche.

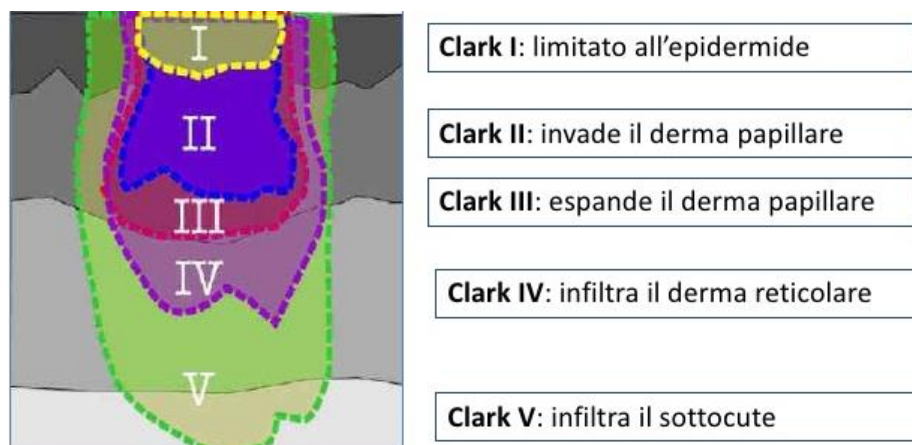
La microstadiazione (stadiazione patologica) si basa sulla determinazione della estensione del melanoma in funzione dei fattori prognostici istopatologici che sono rappresentati da:

### 1. Livello di invasione (secondo Clark)

I livelli di invasione del melanoma furono proposti nel 1967 da Clark; essi sono cinque e descrivono l'entità di invasione del derma da parte delle cellule neoplastiche.

I livelli di Clark (Figura 6) sono:

- I livello: melanoma confinato all'epidermide (melanoma in situ), quindi senza interruzione della membrana basale;
- II livello: melanoma che infiltra il derma papillare ma solo poche cellule raggiungono il confine tra derma papillare e reticolare;
- III livello: melanoma che infiltra e riempie totalmente il derma papillare comprimendo il derma reticolare senza infiltrarlo;
- IV livello: melanoma che infiltra il derma reticolare
- V livello: melanoma che infiltra il tessuto adiposo sottocutaneo



**Figura 6:** *Livelli di Clark*

È facile comprendere come i livelli di Clark non siano totalmente affidabili nella stadiazione del melanoma a causa della eterogeneità della struttura della cute che causa variabilità anatomiche cospicue da una sede ad un'altra (es. nel dorso il derma reticolare è molto spesso

rispetto la palpebra). Per ovviare a questi problemi, i livelli di invasione sono stati sostituiti con la misurazione dello spessore.

Il livello di Clark ha dimostrato possedere un valore aggiunto, da un punto di vista prognostico, nei melanomi con spessore  $< 1 \text{ mm}$ <sup>60,61</sup>.

Inoltre il livello di Clark non è più raccomandato nella stadiazione, perché non è un fattore prognostico indipendente, soprattutto quando l'indice mitotico viene incluso nell'analisi. È per questo che nel 2010 è stato sostituito da mitosi e ulcerazione.

## **2. Spessore del melanoma (secondo Breslow)**

Nel 1970 Breslow propose come fattore prognostico lo spessore della lesione; questo viene determinato misurando (in mm) una sezione istologica del melanoma, partendo dalla prima cellula atipica localizzata nello strato granuloso della cute (o dalla base dell'ulcera nei melanomi ulcerati) e terminando nel punto di massima infiltrazione (ultima cellula atipica situata in profondità). Nei casi di melanoma con focolaio dermico o ipodermico separato dalla componente invasiva, la misurazione deve comprendere lo spessore massimo del melanoma indipendentemente dal focolaio separato, che deve essere segnalato come satellitosi microscopica. Lo spessore è il fattore prognostico più significativo in assenza di metastasi linfonodali.

## **3. Indice mitotico**

Il numero di mitosi/mm<sup>2</sup> costituisce un importante fattore prognostico, introdotto come variabile utile ai fini della stadiazione nell'ultima revisione della AJCC<sup>62</sup>.

Appare essere un importante fattore prognostico anche per melanomi apparentemente a basso rischio (spesso di Breslow  $< 0,76 \text{ mm}$ ), per cui è sufficiente ci sia una mitosi/mm<sup>2</sup> per decidere se effettuare o meno la biopsia del linfonodo sentinella<sup>11</sup>.

L'ultima versione della AJCC raccomanda di calcolare l'indice mitotico con la tecnica degli "hot spot".

Barnhill et al<sup>63</sup> hanno cercato di comparare l'importanza dell'indice mitotico con l'ulcerazione, in pazienti con malattia localizzata. Attraverso un'analisi multivariata, che includeva l'indice mitotico, l'ulcerazione e lo spessore di Breslow, è stato visto come il primo sia il più importante fattore prognostico indipendente<sup>60,64,65,66</sup>.

## **4. Presenza di invasione linfatica o vascolare**

L'invasione dei vasi linfatici sembra correlare con il rischio di recidiva cutanea e sviluppo di metastasi in transit<sup>61</sup>.

### **5. Presenza o assenza di melanina**

Il melanoma con assenza di melanina viene definito Melanoma Amelanotico.

### **6. Presenza di infiltrato linfocitario peri e intratumorale**

L'infiltrato linfocitario si valuta solo nei melanomi con fase di crescita verticale.

Il TIL può essere:

- Brisk (marcato): banda continua di numerosi linfociti localizzati alla base del nodulo tumorigenico o diffusa ed intensa infiltrazione di linfociti frammisti alle cellule melanocitarie neoplastiche;
- Non Brisk (moderato): infiltrato linfocitario scarso posto all'interno del nodulo tumorigenico, disposto in singole cellule o in piccoli gruppi;
- Absent (assente): assenza di cellule linfocitarie

Importante è la disposizione topografica dell'infiltrato linfocitario: i linfociti, per avere importanza prognostica, devono infiltrare e distruggere le cellule tumorali della crescita verticale del melanoma, mentre i linfociti presenti al di fuori della crescita verticale non hanno importanza nel determinare un effetto sulla storia naturale del tumore (dunque per il sottogruppo Brisk la prognosi è più favorevole, mentre la più sfavorevole è nel sottogruppo Absent).

### **7. Presenza di satellitosi**

Le satellitosi sono definite come papule cupoliformi quasi sempre pigmentate, più raramente rosa o del colore della cute; le microsattelitosi, invece sono dei nidi tumorali di diametro > 0,05 mm, localizzati nel derma reticolare e/o nel sottocute e distanti almeno 0,3 mm dalla massa principale.

La presenza di microsattelitosi, definisce un sottogruppo di pazienti ad alto rischio di fallimento della terapia regionale e sistemica, con prognosi simile allo stadio III AJCC.

### **8. Presenza di regressione spontanea**

Per regressione si intende la scomparsa totale o parziale di una neoplasia, senza alcuna terapia, o con una terapia generalmente considerata inadeguata a determinare alcuna influenza sulla storia naturale della neoplasia. Nella diagnosi istologica la segnalazione della regressione è un

parametro morfologico importante in quanto la sua presenza potrebbe, almeno in alcuni casi, portare ad una determinazione erronea del livello e dello spessore del melanoma e pertanto ad una non corretta valutazione prognostica. Tuttavia i dati riportati in letteratura sul significato prognostico della regressione sono controversi.

## **9. Presenza di necrosi**

## **10. Linfonodo Sentinella**

Lo stato del linfonodo sentinella è un importante fattore prognostico non indipendente<sup>67</sup>.

In pazienti con SLN positivo i fattori prognostici sono rappresentati dal numero di linfonodi positivi, dallo spessore del tumore primario, ulcerazione, indice mitotico ed età, mentre in pazienti con linfonodo clinicamente palpabile, i fattori prognostici sono il numero di linfonodi positivi, ulcerazione ed età del paziente<sup>68</sup>.

## **11. Presenza di metastasi a distanza**

Il sito delle metastasi è il più importante fattore predittivo di outcome nei pazienti con metastasi a distanza (stadio IV). In questi pazienti, viene anche valutata la concentrazione di LDH circolante, il cui valore elevato è indicatore indipendente di prognosi infausta.

## **1.10 STADIAZIONE**

La classificazione più usata al mondo è quella proposta dalla American Joint Committee on Cancer (AJCC) del 2009.

Secondo la revisione da parte della AJCC, i pazienti affetti da melanoma vengono classificati in tre gruppi:

- Stadio I-II: pazienti con malattia localizzata, senza evidenza di metastasi;
- Stadio III: malattia regionale, ossia presenza di metastasi linfonodali;
- Stadio IV: presenza di metastasi a distanza.

Il primo sistema di stadiazione per il melanoma classificava i pazienti in tre categorie, dove lo stadio I corrispondeva a malattia localizzata, stadio II metastasi regionali e stadio III metastasi a distanza. Nel 1997 l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) e l'Union Internationale Centre le Cancer (UICC), sulla base del fatto che circa l'80% dei pazienti si trovavano nello stadio I, hanno formulato una classificazione in 4 stadi. Questa classificazione è stata rivista nel 2001, mentre la più recente revisione, è quella del 2009<sup>62</sup> (settima edizione), nella quale è stato



ampliato il campione di studio e sono stati resi noti i dati del follow-up dei pazienti sottoposti al precedente studio (2001). I risultati sono stati:

1. Nei pazienti con malattia localizzata, i principali fattori prognostici sono lo *spessore della neoplasia primitiva*, l'*indice mitotico* e l'*ulcerazione*;
2. È stata data una nuova definizione dello stadio T1, in cui i Livelli di Clark sono stati sostituiti dall'indice mitotico e dall'ulcerazione, quando questi sono inclusi nell'analisi; se, diversamente, non sono inclusi, allora il livello di invasione rimane un importante fattore prognostico;
3. In pazienti con metastasi linfonodali, i principali fattori prognostici sono il numero di metastasi linfonodali, le dimensioni del tumore, l'ulcerazione e lo spessore del tumore primario;
4. Ai fini della stadiazione, le micrometastasi linfonodali, rilevate grazie al crescente uso della biopsia del linfonodo sentinella, rientrano nello stadio III; importante è l'ausilio della immunohistochimica, nel rilevare le micrometastasi;
5. Le due componenti fondamentali che definiscono le metastasi a distanza continuano ad essere il sito e i valori sierici dell'LDH elevati.

AJCC raccomanda la biopsia del linfonodo sentinella in tutti i casi in cui sia importante definire un piano di trattamento e di follow-up; in modo particolare vengono sottoposti a questa procedura pazienti T2, T3 e T4 e che clinicamente non presentino metastasi linfonodali. SLNB è altresì raccomandato in pazienti T1b<sup>69,70</sup>.

### **Il nuovo sistema di stadiazione (Balch 2009)<sup>62</sup>**

| <i>Tumore primitivo (T)</i>    |                                 |  |
|--------------------------------|---------------------------------|--|
| Tis                            | Carcinoma in situ               |  |
| T1                             | Tumore ≤ a 1.0 mm in spessore   | A: Senza ulcerazione e mitosi < 1/mm <sup>2</sup><br>B: Con ulcerazione o mitosi ≥ 1/mm <sup>2</sup> |
| T2                             | Tumore 1.01-2.0 mm in spessore  | A: Senza ulcerazione<br>B: Con ulcerazione   |
| T3                             | Tumore 2.01-4.00 mm in spessore | A: Senza ulcerazione<br>B: Con ulcerazione   |
| T4                             | Tumore >4.00 mm in spessore     | A: Senza ulcerazione<br>B: Con ulcerazione   |
| <i>Linfonodi regionali (N)</i> |                                 |  |
| N0                             | No metastasi linfonodali        |  |

|                                 |   |  |
|---------------------------------|---|--|
| N1                              | 1 linfonodo   | A: Micrometastasi<br>B: Macrometastasi   |
| N2                              | 2-3 linfonodi   | A: Micrometastasi<br>B: Macrometastasi<br>C: metastasi in-transit/satellite(s) senza linfonodi metastatici |
| N3                              | 4 o più linfonodi oppure linfonodi regionali metastatici conglobati o metastasi satellite(i) o in-transit con metastasi nei linfonodi regionali |  |
| <i>Metastasi a distanza (M)</i> |   |  |
| M0                              | No metastasi a distanza   |  |
| M1a                             | Metastasi a distanza cutanee, sottocutanee o linfonodali  | LDH = Normale  |
| M1b                             | Metastasi polmonari   | LDH = Normale  |
| M1c                             | Metastasi viscerali   | LDH = Normale  |
|                                 | Qualsiasi metastasi a distanza  | LDH = Elevato  |

| <b>Stadi</b> |                      |                         |
|--------------|----------------------|-------------------------|
|              | Stadiazione Clinica* | Stadiazione Patologica† |
| 0            | Tis N0 M0            | Tis N0 M0               |
| IA           | T1a N0 M0            | T1a N0 M0               |
| IB           | T1b N0 M0            | T1b N0 M0               |
|              | T2a N0 M0            | T2a N0 M0               |
| IIA          | T2b N0 M0            | T2b N0 M0               |
|              | T3a N0 M0            | T3a N0 M0               |
| IIB          | T3b N0 M0            | T3b N0 M0               |
|              | T4a N0 M0            | T4a N0 M0               |
| IIC          | T4b N0 M0            | T4b N0 M0               |
| III          | Qualsiasi T N1 M0    |                         |
|              | N2                   |                         |

|  |                            |                              |
|--|----------------------------|------------------------------|
|  | N3                         |                              |
| IIIA   |                            | T1-4a N1-2a M0               |
| IIIB   |                            | T1-4b N1a-2a M0              |
|  |                            | T1-4a N1b-2b M0              |
|  |                            | T1-4a N2c M0                 |
| IIIC   |                            | T1-4b N1b-2b M0              |
|  |                            | T1-4b N2c M0                 |
|  |                            | Qualsiasi T N3 M0            |
| IV   | Qualsiasi T Qualsiasi N M1 | Qualsiasi T, qualsiasi N, M1 |
| <p>*Stadiazione clinica include microstadiazione del melanoma primitivo e la valutazione clinica / radiologica per le metastasi. Per convenzione, dovrebbe essere utilizzato dopo la completa asportazione del melanoma primitivo con la valutazione clinica delle metastasi regionali e a distanza.</p> <p>†Stadiazione patologica comprende la microstadiazione del melanoma primitivo e informazioni patologiche sui linfonodi regionali dopo una linfadenectomia parziale (ad esempio, biopsia del linfonodo sentinella) o completa. I pazienti in stadio 0 o stadio IA pazienti fanno eccezione, perché non richiedono la valutazione patologica dei linfonodi.</p> |                            |                              |

**Stadio 0:** melanoma in situ

**Stadio I:** melanoma  $\leq 1.0$  mm con o senza ulcerazione e mitosi  $\geq 1/\text{mm}^2$  o 1.01-2.0 mm senza ulcerazione

**Stadio II:** melanoma 1.01-2.0 mm con ulcerazione o  $> 2.0$  mm con o senza ulcerazione ma senza coinvolgimento linfonodale

**Stadio III:** qualsiasi spessore tumorale con coinvolgimento dei linfonodi regionali e/o metastasi in transit

**Stadio IV:** metastasi a distanza

I pazienti in stadio I e II potrebbero essere sottoposti a SLNB, in rapporto allo spessore, all'ulcerazione e all'indice mitotico ed è stato visto che il 5-40% dei pazienti passano da questo stadio allo stadio III, per presenza di micrometastasi. Questi pazienti hanno una miglior prognosi rispetto ai pazienti con linfonodi clinicamente positivi, che hanno macrometastasi<sup>67,71</sup>. Un'ulteriore stadiazione del melanoma maligno è quella di M.D. Anderson, per cui le metastasi in transit sono considerate al pari delle metastasi linfonodali, mentre tra le metastasi a distanza si considerano quelle cutanee o viscerali (polmone, fegato, ossa ed encefalo).

|    |  |
|----|--|
| IA | Tumore primitivo intatto   |
| IB | Tumore primitivo escisso   |
| IC | Melanoma multiplo  |
| II | Recidiva locale e/o metastasi sottocutanee entro 3 cm dalla sede del primitivo |

|       |  |
|-------|--|
| IIIA  | Metastasi Satelliti/in-transit > 3 cm dal tumore primitivo/innesto cutaneo |
| IIIB  | Metastasi linfonodali regionali  |
| IIIAB | Metastasi satelliti/in-transit con metastasi linfonodali regionali         |
| IVA   | Metastasi a distanza solo cutanee  |
| IVB   | Metastasi a distanza solo viscerali  |

### 1.11 MELANOMA METASTATICO

Un melanoma lasciato alla sua evoluzione naturale tende a crescere irregolarmente, ad ulcerarsi, talvolta a regredire spontaneamente e soprattutto a metastatizzare. All'incirca il 15-35% dei pazienti con melanoma cutaneo senza metastasi al momento della prima diagnosi (stadio I) sviluppa successivamente una ripresa di malattia o una metastasi. La ripresa di malattia o la metastasi avvengono nella maggior parte dei casi con una estensione progressiva che può inizialmente interessare la sede del melanoma primitivo (*recidiva locale*), l'area perilesionale (*metastasi satelliti*), poi la cute interposta tra la sede del melanoma e la stazione linfonodale più vicina (*metastasi in transit*) quindi i linfonodi regionali (*metastasi regionali*) ed infine gli organi o altre sedi distanti, talora anche inusuali (*metastasi a distanza*). Nelle localizzazioni metastatiche è utile definire anche la presenza o meno di infiltrato linfocitario nello stesso modo con cui viene definito quello presente nella componente verticale di un melanoma primitivo<sup>72</sup>. Metastasi satelliti: vengono riscontrate nel 2% dei pazienti; sono per definizione delle metastasi cutanee localizzate nel derma o nell'ipoderma, perifericamente o profondamente rispetto al tumore primitivo e distanti meno di 5 cm da esso. Vengono distinte in:

- Macroscopiche: sono definite dall'evidenza clinica di depositi tumorali a 2 cm dalla lesione primitiva lungo la linea di drenaggio della prima stazione linfatica.
- Microscopiche: sono definite come qualsiasi nido discontinuo di cellule metastatiche di diametro più di 0,05 mm chiaramente separate dal derma normale (assenza di fibrosi ed infiammazione) ad una distanza di almeno 0,3 mm dal melanoma primario.

Questa diffusione delle cellule melanomatose atipiche avviene attraverso l'invasione dei vasi linfatici della cute e del tessuto sottocutaneo. Non è ancora chiaro se queste rappresentino un fattore predittivo indipendente per la sopravvivenza, ma i dati per ora definiscono un rischio aumentato di recidive regionali ed un minor tasso di sopravvivenza libera da malattia (Disease

Free Survival). Come conseguenza di ciò l'AJCC ha raccomandato di classificarle nella categoria N2c (stadio IIIB)<sup>77,73</sup>.

Metastasi in transit: quando la metastasi cutanea è posta oltre i 5 cm dal melanoma ma entro la prima stazione linfonodale; è dovuta all'avanzamento progressivo delle cellule neoplastiche all'interno dei vasi linfatici intradermici. In particolar modo si definiscono come degli emboli di cellule che si staccano dal tumore primario entrando nei vasi linfatici, dove vengono intrappolati (tra il tumore primario e la prima stazione linfonodale), per poi proliferare. È stato visto come la dissezione linfonodale compartimentale determini un aumento dell'intrappolamento delle cellule neoplastiche nei linfatici<sup>74</sup>. Tali metastasi vengono riscontrate nel 3% dei pazienti e raramente hanno spessore minore di 2 mm.

Recenti studi dimostrano una correlazione tra lo stato del linfonodo sentinella e la presenza di metastasi in-transit, dimostrando un'incidenza del 12% di metastasi in transit in pazienti SLN positivo, rispetto al 3,5% in pazienti con SLN negativo<sup>89</sup>.

Alla metastasi in-transit può essere imputata la tendenza dei melanomi più spessi a recidivare localmente. La prognosi di questi pazienti è scarsa, perché la loro presenza si correla ad una progressione della malattia verso la forma sistemica<sup>75</sup>.

Metastasi regionali: sono localizzate nella stazione linfonodale di drenaggio. Le metastasi linfonodali, per lo più intracapsulari, sono riscontrate nel 20% dei pazienti affetti da melanoma e spesso precedono le metastasi per via ematica. Nel 5% dei casi la presenza di linfonodi metastatici è riscontrabile al momento della diagnosi iniziale.

La crescita extra-capsulare e, soprattutto, la diffusione per via linfatica, sono fattori associati a una prognosi sfavorevole. La valutazione delle metastasi linfonodali deve tenere presenti:

- il numero di linfonodi coinvolti
- le caratteristiche di tali metastasi:
  - micrometastasi (< 0.2 cm)
  - macrometastasi (0.2-3.0 cm)
  - massive (>3.0 cm)
  - extracapsulari

Metastasi a distanza: in termini statistici gli organi più colpiti sono cute, sottocute e linfonodi (42-58%); polmoni (18-36%); fegato (14-36%); cervello (12-20%); ossa (10-18%). La diffusione sistemica del tumore avviene nel 20% dei pazienti. Le metastasi cerebrali ed epatiche costituiscono una frequente causa di morte. Il tessuto osseo ed il tratto gastro-intestinale sono sedi meno frequenti, così come tiroide, surreni, pancreas e mammella che risultano siti metastatici in sede autoptica, in quanto la malattia rimane silente nella maggior parte dei casi.

### **1.11.1 Diagnosi delle metastasi**

L'eventualità di sviluppare una metastasi è fortemente legata allo spessore del melanoma, alla sede e alla presenza di ulcerazione. Il 60-70% della comparsa di metastasi avviene entro i primi due anni e l'80% entro i primi tre anni dalla rimozione del melanoma primitivo. Tale evidenza si riflette comprensibilmente sugli schemi di follow-up e sul programma di indagini da eseguire. La maggioranza delle metastasi da melanoma sono loco-regionali e perciò rilevabili con un adeguato esame clinico, il quale insieme all'anamnesi relativa ai vari organi e sistemi, rappresenta l'indagine di gran lunga più utile, soprattutto in vista del fatto che oltre il 30% dei pazienti con metastasi linfonodali non manifesta ulteriori riprese, entro i 15 anni, se sottoposto ad un tempestivo e adeguato intervento chirurgico. Un paziente che presenti lesioni sospette deve sottoporsi ad una visita medica, durante la quale devono essere esaminati la cute e il tessuto sottocutaneo intorno alla lesione primaria e tra quest'ultima e la stazione linfonodale regionale, al fine di individuare eventuali metastasi satelliti o in transit. Anche la stazione linfonodale regionale deve essere valutata, inizialmente con esame ecografico. Inoltre, deve essere sottolineato che ogni ulteriore approfondimento diagnostico deve essere motivato da segni e sintomi rilevati ad una scrupolosa anamnesi ed esame obiettivo. Nel paziente asintomatico l'accuratezza diagnostica degli screening è estremamente bassa e sono frequenti i falsi positivi.

Per la diagnosi delle metastasi a distanza ci si avvale essenzialmente delle indagini radiologiche e ultrasonografiche. In assenza di aspetti clinici di localizzazione a distanza ci si può limitare ad eseguire una radiografia del torace in due proiezioni e una ecografia del fegato, in modo da analizzare le sedi più frequentemente interessate. Nel caso di una radiografia del torace negativa, un uso routinario della TAC non è giustificato in quanto l'accuratezza diagnostica è superiore di solo circa l'1% e pertanto può produrre un'alta incidenza di falsi positivi, a fronte di costi elevati. Analogamente, l'impiego della TC o della RMN non è di alcuna utilità nello studio del cervello, in assenza di specifici sintomi o segni. L'utilizzo di TC, RMN è riservato ai casi dubbi o quando sia richiesto dal protocollo di trials clinici, oppure qualora sia indispensabile per la programmazione terapeutica. L'ecografia dei linfonodi regionali, invece, costituisce l'esame più semplice e con un miglior rapporto costo-effetto, e può essere utilizzata come guida per procedure diagnostiche patologiche come agoaspirato (procedura standard con sensibilità del 92% e specificità del 100%) o core-biopsy. La scintigrafia ossea rappresenta l'indagine più sensibile per l'individuazione di metastasi ossee, ma non trova indicazione nella stadiazione routinaria perché la sua positività è inferiore all'1% dei casi.

Un cenno a parte merita la Tomografia a Emissione di Positroni (PET), attualmente disponibile in centri specializzati. La metodica fornisce bioimmagini ottenute dopo somministrazione di molecole di interesse biologico, marcate con isotopi emettitori di positroni. Il tracciante attualmente più utilizzato nella diagnostica oncologica è il 18-fluorodesossiglucosio (FDG) che attraversa la membrana cellulare e rimane intrappolato all'interno della cellula. Tra i vari tumori indagati, il melanoma è risultato essere la neoplasia maggiormente captante FDG. Rispetto ad altre procedure diagnostiche (ecografia, TAC, RMN), che forniscono una valutazione prevalentemente anatomico-morfologica di organi e strutture, la PET è capace di caratterizzare eventuali lesioni tumorali primitive o secondarie dal punto di vista biologico e metabolico, fornendo informazioni utili per la diagnosi e la stadiazione<sup>76</sup>.

Ad oggi esiste la possibilità di identificare delle metastasi linfonodali occulte, attraverso l'ausilio di una tecnica: la Biopsia del Linfonodo Sentinella (SLNB). Questa procedura comporta l'identificazione del primo linfonodo del bacino di competenza di drenaggio della neoplasia e la localizzazione approssimativa dello stesso attraverso la marcatura sulla cute sovrastante in sede preoperatoria, durante la linfoscintigrafia<sup>77</sup>.

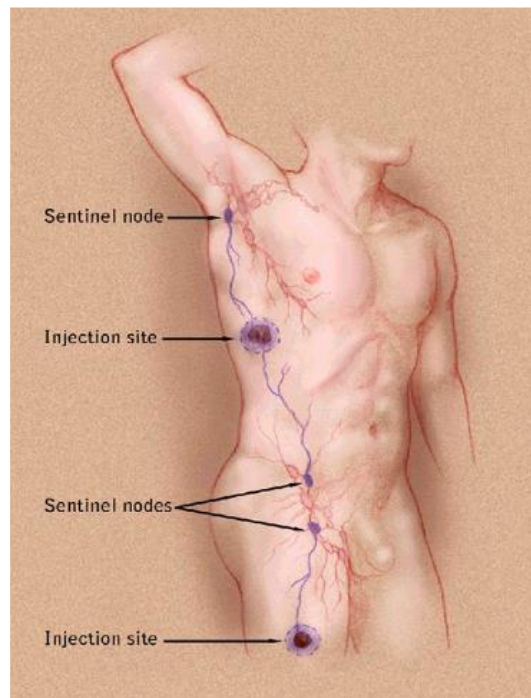
Prima dello sviluppo di questa tecnica, veniva raccomandato a tutti i pazienti con spessore del melanoma  $\geq 1,5$  mm di essere sottoposti a linfoadenectomia elettiva qualora fossero ad alto rischio di sviluppare delle metastasi, sebbene in assenza di malattia clinicamente documentabile. Questa tecnica aveva il vantaggio di offrire un trattamento definitivo in una fase precoce della malattia, ma contestualmente provocava svantaggi non sottovalutabili, quali la morbilità legate alla procedura (linfedema cronico, dolore, parestesia) e il fatto di non esser certi di eseguire la linfoadenectomia nella sede corretta di drenaggio, senza contare che i dati riportavano una percentuale inferiore al 20% di metastasi linfonodali riscontrate.

Questo, quindi, non giustifica l'effettuazione di una linfoadenectomia profilattica, ma evidenzia l'esistenza di un gruppo di pazienti portatori di malattia occulta a livello linfonodale<sup>78</sup>.

Lo scopo fondamentale è dunque quello di identificare in modo poco invasivo questo gruppo di pazienti.

Vent'anni fa, si svolgeva facilmente la dissezione linfonodale completa regionale qualora il sito neoplastico primitivo fosse localizzato agli arti, ma nel momento in cui il melanoma si localizzasse nel tronco il sito di drenaggio non era chiaro e diveniva problematico eseguire l'intervento. Venne quindi introdotta la linfoscintigrafia, con lo scopo di andare ad identificare la sede reale di drenaggio del tumore (Figura 7)<sup>79,80</sup>. I primi studi vennero svolti su modelli animali, i cui risultati dimostrarono come ogni area di cute fosse collegata con uno o due

linfonodi dell'area di drenaggio linfonodale<sup>82</sup>. Da qui nacque il concetto di *linfonodo sentinella*, come il primo linfonodo, o i primi linfonodi, che ricevono il drenaggio dal sito neoplastico. È così che lo stato del linfonodo sentinella è considerato indicatore dello stato del tumore primario a livello regionale: se il linfonodo sentinella è negativo, gli altri linfonodi dovrebbero essere negativi, mentre se è positivo, altri linfonodi regionali lo potrebbero essere<sup>81</sup>.



**Figura 7:** *Linfoscintigrafia cutanea*

È solo nel 1992<sup>82</sup> che la tecnica del mappaggio linfatico e della biopsia del linfonodo sentinella iniziano ad essere attuati in modo routinario, con lo scopo, attraverso una minima incisione, di stadare il tumore e di selezionare i pazienti che potrebbero beneficiare della linfadenectomia radicale in modo tale, teoricamente, di migliorarne la prognosi.

È stato effettuato un lavoro internazionale su una casistica di 800 pazienti<sup>83</sup> ed è emerso che 1 su 50 osservati avevano una localizzazione secondaria ad un linfonodo sentinella. Per cui è nell'1-3% dei casi, circa, che si ha la presenza di metastasi occulte in linfonodi diversi, rispetto al sentinella<sup>76</sup>.

In generale, la biopsia del linfonodo sentinella non è raccomandata per melanomi primitivi che abbiano uno spessore  $\leq 0.75$ mm, a meno che non esista una significativa incertezza sulla stadiazione microistologica. Per melanomi con spessore tra 0.76 mm e 1 mm, può essere considerato qualora esistano altri parametri “di rischio”, quali l'ulcerazione, l'alto indice mitotico e l'invasione linfovaskolare<sup>84</sup>.



## 1.12 TRATTAMENTO CHIRURGICO DEL TUMORE PRIMARIO

Per i pazienti affetti da melanoma, il trattamento più efficace, ad oggi, è l'intervento chirurgico, eseguito seguendo linee guida standardizzate, nell'ottica di radicalità oncologica e riduzione del rischio di recidiva (il melanoma è la neoplasia in cui il concetto di radicalità locoregionale è forse tra i più forti rispetto a molte altre neoplasie<sup>85</sup>).

L'intervento chirurgico è applicato in una delle circostanze seguenti:

- diagnostica (asportazione di lesioni sospette, non certamente maligne);
- trattamento radicale o sintomatico
- trattamento medico perfusione a livello distrettuale (isolamento vascolare di un distretto corporeo al fine di praticare un trattamento farmacologico e/o fisico, così da perfondere una dose maggiore rispetto a quella per via sistemica)

Nel primo caso l'escissione deve rispettare i criteri sopradescritti (margini 1-2mm), Qualora l'esame istologico dimostri la presenza di un melanoma cutaneo, specificandone spessore e livello di profondità, si procede con la seconda fase del trattamento chirurgico (da effettuare entro 3 mesi dall'escissione della lesione primitiva), che consiste in un'exeresi per radicalizzazione, mantenendo un margine di resezione che dipende dallo spessore della lesione stessa<sup>86</sup>.

Sono stati eseguiti numerosi studi per definire il margine chirurgico ottimale per il melanoma primario. Un primo studio prospettico è stato condotto dalla WHO su 612 pazienti con melanoma primario di spessore non superiore a 2 mm, in cui venivano sottoposti ad escissione chirurgica, con margini di resezione liberi di 1 cm o 3 cm<sup>67,71</sup>. Con un follow-up medio di 90 mesi, è stato visto che le recidive, la sopravvivenza libera da malattia e sopravvivenza complessiva erano simili in entrambi i gruppi. Questi dati sono stati confermati da dei trial fatti in Svezia e Francia<sup>87,88</sup>.

Un trial multicentrico randomizzato europeo, invece, ha analizzato 936 pazienti con melanoma di spessore > 2 mm, trattati con escissione chirurgica con margini di resezione liberi di 2 cm o

4 cm<sup>89</sup>. Andando ad analizzare la sopravvivenza di questi pazienti a 5 anni, si vede che tra i due gruppi è simile. Ciò è in linea con studi clinici precedenti che rilevano come non ci siano benefici con margini di resezioni più ampi di 2 cm in lesioni più spesse<sup>90,91,92</sup>

Una revisione sistemica ed una meta-analisi hanno riportato come i margini di escissione chirurgica di non più di 2 cm sono adeguati e che non dovrebbero essere inferiori a 1 cm.

Quindi, per quanto concerne i margini di resezione, questi devono essere correlati con lo spessore di invasione del melanoma in relazione al rischio che foci microscopici di malattia possano essere diffusi nella cute circostante alla lesione primitiva al momento dell'exeresi stessa.

In presenza di diagnosi di melanoma, sia su base clinica che istologica, dopo un'exeresi limitata, le raccomandazioni della NCCN (National Comprehensive Cancer Network) per quanto concerne il margine di resezione da tenere sono:

- almeno 0.5 cm per il melanoma in situ (se lentigo maligna, i margini devono essere maggiori)
- 1cm per melanoma con Breslow < 1 mm
- tra 1 e 2 cm per melanoma con breslow tra 1,01 mm e 2 mm
- 2 cm per melanoma con <breslow tra 2,01 mm e 4 mm, e >4 mm

In alcune circostanze è opportuno tenere in considerazione la sede anatomica della neoplasia e le considerazioni funzionali, ed, in base a queste, definire i margini di resezione. Secondo le raccomandazioni della NCCN, è stato riconosciuto che 1-2 cm di margine potrebbero essere accettabile in aree anatomicamente scomode, in cui un intero margine di 2 cm sarebbe difficile da realizzare.

L'altro aspetto importante dal punto di vista oncologico è lo spessore dell'escissione; questa dovrebbe essere estesa fino alla fascia profonda senza includerla, a meno che non risulti direttamente invasa dalla neoplasia, in quanto è stato dimostrato che la sopravvivenza non si modifica asportando la suddetta fascia.

La collaborazione con il chirurgo plastico è particolarmente utile nel trattamento dei pazienti con melanoma della testa e del collo ed in altre sedi particolari come le estremità; in questo modo si può ottenere un eccellente risultato estetico pianificando con attenzione le linee di incisione ed utilizzando lembi di rotazione o innesti cutanei.

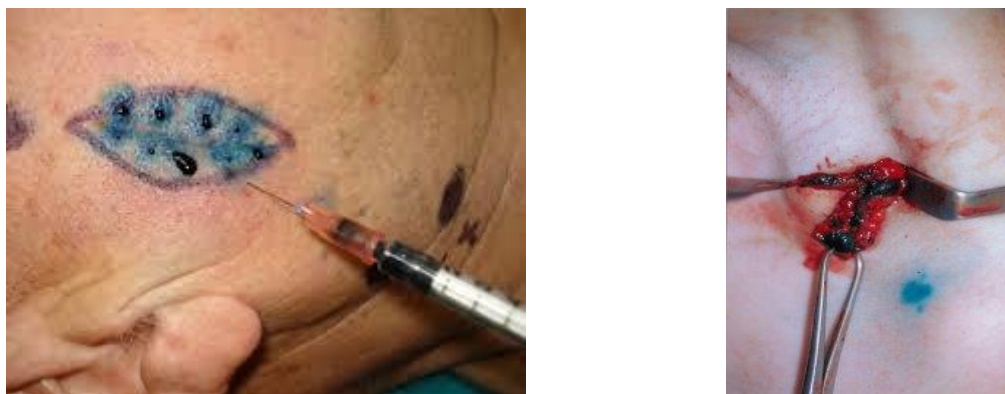
### 1.13 BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA E DISSEZIONE SELETTIVA

La Biopsia del Linfonodo Sentinella (SLNB) è una procedura mininvasiva, sviluppata per identificare i pazienti con metastasi linfonodali subcliniche ad alto rischio di sviluppare recidiva, che potrebbero essere candidati alla linfadenectomia radicale compartimentale o alla terapia adiuvante sistemica<sup>93</sup>.

Sono stati eseguiti diversi studi al fine di definire quali pazienti devono essere sottoposti a SLNB, tra cui lo studio di Andtbacka e Gershenwald<sup>94</sup> che hanno visto come vi sia una relazione tra lo spessore del melanoma e la probabilità di SLN positivo. In particolar modo, per i melanomi sottili, è stato visto che malattie con Breslow < 0,75 mm avevano un tasso di metastasi linfonodale del 2,7%, mentre da 0,75-1 mm del 6,2%, diversamente da pazienti con melanoma > 4 mm, che avevano un tasso di metastatizzazione del 30-40%. In realtà, tra i primi (< 0,75 mm) è bene tenere in considerazione che la probabilità di sviluppare metastasi linfonodali è in relazione anche ad altri fattori, oltre lo spessore, quali livello di Clark, ulcerazione, alto indice mitotico e la giovane età, mentre per i secondi (0,75-1 mm), SLNB offre sicuramente una miglior prognosi.

Secondo le Linee Guida AIOM del 2013, la procedura deve essere offerta a tutti i pazienti che hanno un melanoma primitivo con spessore  $\geq 1$  mm, indipendentemente dalle caratteristiche istopatologiche associate<sup>95,96,97,98</sup>. Inoltre può essere preso in considerazione nel melanoma di spessore < 1 mm in presenza di altri fattori di rischio (ulcerazione, indice mitotico almeno di 1 mitosi/mm<sup>2</sup>, giovane età).

Per identificare il SLN, il metodo originariamente descritto da Morton consiste nell'inoculo perilesionale, subito prima dell'inizio dell'intervento chirurgico, tramite 2-4 iniezioni in sede intradermica di 1-2 ml di un colorante vitale (Patent blu o Isosulfan Blu) (Figura 8) dotato di spiccato linfootropismo, e si procede poi al massaggio di tale zona per una decina di minuti per favorire la diffusione del colorante lungo le vie linfatiche.



**Figura 8:** *Iniezione intradermica di Isosulfan Blu e linfonodo sentinella colorato*

Ad oggi questa metodica è stata sostituita con la linfoscintigrafia dinamica preoperatoria, considerata indispensabile; questa ha lo scopo di studiare il drenaggio linfatico della regione cutanea sede del melanoma, individuare le stazioni linfoghiandolari a rischio di metastasi, ed individuare nell'ambito di ognuna di essa il/i linfonodo/i sentinella. Consente, inoltre, l'identificazione dei linfonodi sentinella" sottocutanei "in-transit"<sup>99</sup>. La linfoscintigrafia può essere eseguita o il giorno prima dell'intervento (ossia 15-18 ore prima, ad una dose maggiore di radiofarmaco, in quanto bisogna tenere in considerazione il decadimento del radioattivo, in quanto la sonda di rilevamento intraoperatoria necessita della persistenza di una minima radioattività nella sede della biopsia.) oppure il giorno stesso (3-6 ore prima, con una dose inferiore di radiofarmaco). Esistono delle controindicazioni assolute (infezione locale o infiammazione nel punto di iniezione) e relative (gravidanza, allattamento, mancanza di cooperazione ad eseguire l'esame). Il radiofarmaco è composto da aggregati di albumina, il nanocolloide (diametro massimo di 100 nm), o sospensioni colloidali solforate marcate con <sup>99m</sup>Tc, e viene somministrato per via intradermica o subdermica, in numero da 4 a 8 iniezioni in base alla dimensione della lesione o della cicatrice, in sede prossimale se la lesione è nel piede o nelle gambe, a livello prossimale e distale se a livello della coscia, mentre radialmente se a livello del dorso o testa e collo.

La scintigrafia per identificare il linfonodo sentinella è suddivisa in due momenti<sup>99</sup>:

- 1- Un primo momento in cui il paziente viene inserito in un gamma-camera dove avviene la captazione di fotoni provenienti dalla sostanza radioattiva iniettata e la distribuzione del radiofarmaco viene rappresentata come immagine. Vengono ripetute multiple acquisizioni di immagine, in particolare a tre tempi: dopo 0-5 minuti (fase immediata), 30 minuti (fase precoce) e dopo 2 ore (fase tardiva) dall'iniezione. L'elaborazione computerizzata delle immagini ottenute consente di individuare e disegnare sulla cute

la proiezione del linfonodo sentinella. Nelle immagini acquisite tardivamente, dopo il lavaggio dei vasi linfatici, è possibile mettere in evidenza i linfonodi in transito situati tra la sede del tumore primitivo e il bacino linfonodale regionale. Quando la linfoscintigrafia rivela che il drenaggio linfatico è indirizzato verso più stazioni linfonodali con la stessa intensità, sarà opportuno procedere alla biopsia di tutte le sedi individuate, escludendo quelle profonde (mediastino e retroperitoneo) in assenza di un evidente sospetto verificato mediante TC o RMN.

- 2- Il secondo momento si svolge in sala operatoria, dove il chirurgo, mediante una sonda per chirurgia radioguidata, individua il punto sulla cute di maggior radioattività esterna e lì pratica l'incisione<sup>99</sup>. La ricerca del "linfonodo sentinella" viene eseguita, muovendo delicatamente la sonda all'interno della breccia chirurgica al fine di identificare la regione con la massima radioattività, corrispondente al linfonodo sentinella più "caldo" (Figura 9).



**Figura 9:** Ricerca del linfonodo sentinella con Scintiprobe, all'interno della breccia chirurgica

Una volta identificato il/i LS (Figura 10) si procede alla legatura dei vasi afferenti/efferenti e quindi alla rimozione del pezzo operatorio. Dopo la rimozione del linfonodo sentinella la sonda viene utilizzata per valutare la radioattività residua, a conferma della corretta asportazione del LS.

Il linfonodo sentinella asportato viene inviato all'anatomopatologo per una valutazione istopatologica definitiva. In considerazione delle dimensioni estremamente piccole delle metastasi riscontrate in questi pazienti, i più sconsigliano di effettuare un esame estemporaneo intraoperatorio che spesso risulta falsamente negativo.



**Figura 10:** *Identificazione del LS*

Nella refertazione devono essere riportati il numero di linfonodi sentinella esaminati ed il numero di linfonodi positivi. Secondo il più recente sistema di stadiazione, il linfonodo sentinella viene considerato positivo anche solo in presenza di cellule tumorali isolate (N1(i+)). Il linfonodo sentinella viene valutato con colorazione ad ematossilina-eosina e tecniche di immunohistochimica: S-100 (sensibilità dal 95-100% ed una specificità minore perché riscontrati anche in cellule sane), HMB-45 (specificità 95%, ma una sensibilità del 45-65%), MART-1 e NKI/C3. È stato dimostrato con diversi studi come l'immunohistochimica abbia migliorato la sensibilità di rilevamento di metastasi linfonodali<sup>100-95</sup>.

Oltre alle caratteristiche morfologiche delle eventuali metastasi saranno valutati con metodiche immunohistochimiche i seguenti markers: integrina-beta 3, proteine p21 e p27, Mib-1/ki67.

### **1.13.1 Modalità della dissezione linfonodale**

Qualora il linfonodo sentinella risulti metastatico (micro e macro), il paziente viene considerato idoneo per la dissezione linfonodale compartimentale radicale, che consiste nella asportazione completa di tutti i linfonodi presenti nella regione linfonodale colpita. Il concetto di linfoadenectomia regionale completa nasce dalla constatazione che molti melanomi primari cutanei diffondono, attraverso i vasi linfatici intradermici, prima ai linfonodi regionali, per poi diffondere a distanza<sup>79</sup>. In accordo con “incubator hypotesis”, la neoplasia invia dei fattori immunosoppressivi ai linfonodi sentinella, che creano un microambiente ideale per la crescita delle cellule tumorali, che successivamente diffondono ai linfonodi non sentinella e, infine, a distanza<sup>81</sup>. È stato visto che la diffusione per via ematogena diretta si ha in una piccola quota di pazienti che non hanno metastasi linfonodali.

Il fatto che tradizionalmente tutti i pazienti con linfonodo sentinella positivo vengano inviati a linfoadenectomia radicale compartimentale è in parte un'estensione dell'osservazione che, in

storici trials prospettici, tra i pazienti con linfonodo sentinella positivo sopravvivevano più a lungo quelli in cui i linfonodi venivano asportati ancora “innocenti” rispetto a quelli in cui si praticava linfadenectomia radicale terapeutica in un secondo tempo, una volta manifestatesi le metastasi<sup>101,156</sup>. Esistono teoricamente varie ragioni per consigliare questa procedura nei pazienti LNS+, come la probabilità di residui linfonodi-non sentinella metastatici, il valore prognostico di altri linfonodi non-sentinella malati, l’inferiore morbilità dell’intervento preventivo piuttosto che terapeutico e l’impatto migliore dello stesso sul DFS del paziente.

Il trial MSLT-I ha dimostrato come l’88%<sup>102,103</sup> dei pazienti con SLN positivo non avevano altre metastasi linfonodali dopo linfadenectomia, così come oltre al SLN positivo, solo dall’8% al 12% dei linfonodi non sentinella risultavano positivi ad una attenta analisi.

Il fatto che i pazienti con linfonodo sentinella positivo non abbiano alcun coinvolgimento dei linfonodi non sentinella è in accordo con “incubator hypothesis” ed il concetto di metastasi sequenziali. Questo suggerisce anche l’ipotesi che, se le metastasi restano confinate ad uno o due linfonodi sentinella, SLNB possa essere anche terapeutica oltre che diagnostica.

A questo proposito è in corso il Trial MSLT-II con l’ipotesi di partenza che la linfadenectomia radicale possa essere evitata nella maggior parte dei pazienti con SLN positivo<sup>81</sup>, del quale i dati non sono al momento disponibili.

Oltre che in presenza di SLN positivo, la linfadenectomia radicale compartimentale è raccomandata anche in caso di metastasi ai linfonodi regionali clinicamente evidenti (esame obiettivo, ecografia, TAC, prelievo citologico o biptico).

Le stazioni linfonodali di interesse chirurgico sono quelle superficiali, in quanto l’asportazione di metastasi retroperitoneali o mediastiniche non avrebbe comunque un razionale oncologico.

L’estensione della dissezione è in rapporto alla sede anatomica da esplorare; il numero di linfonodi esaminati definisce l’adeguatezza della dissezione e la conseguente valutazione patologica.

Le stazioni per le quali si è delineata una precisa tecnica di dissezione chirurgica sono quelle cervicali, ascellari e della regione inguino-iliaco-otturatoria (da un punto di vista chirurgico possiamo aggiungere le regioni poplitea, epitrocleare e nucale, decisamente rare da trattare).

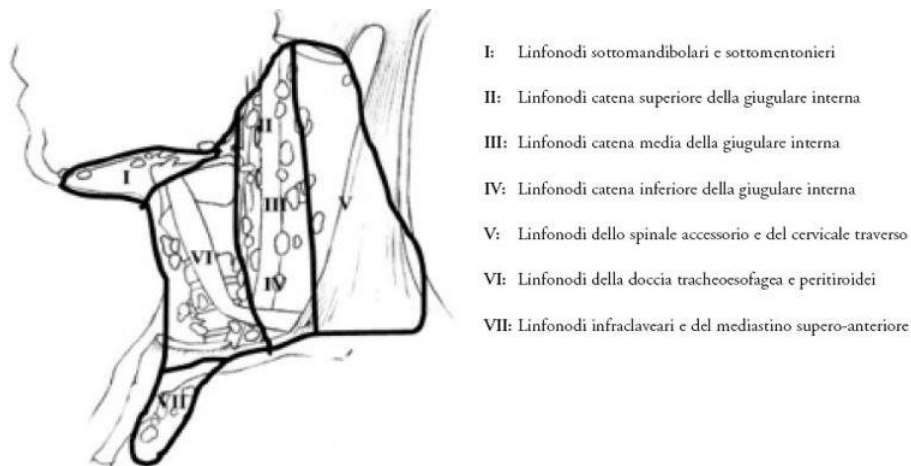
Nella pratica clinica, gli interventi di linfadenectomia più eseguiti consistono quindi, a seconda della sede interessata, in:

- **Dissezione linfonodale laterocervicale**, con o senza parotidectomia: l’indicazione viene posta qualora ci sia un interessamento del distretto cervico-facciale. Può essere eseguita anche l’asportazione della parotide (conservativa del nervo faciale) nel caso in cui ci sia un interessamento secondario dei linfonodi intraparotidei o la presenza di metastasi linfonodali laterocervicali che, sulla base della sede primitiva della neoplasia,

possa aver presentato un drenaggio linfatico attraverso la ghiandola. Di solito le sedi che determinano ciò sono quelle comprese nella regione tra la linea che unisce la punta del naso con l'angolo della mandibola e da qui una linea a 90° fino al cranio, comprendente anche il padiglione auricolare. Negli altri casi il coinvolgimento di questa sede è infrequente.

Le stazioni laterocervicali sono 6 (Figura 11):

- I. Comprende due compartimenti:
  - I.a Sottomentonieri
  - I.b Sottomandibolari
- II. Perigiugulari alti
- III. Perigiugulari medi
- IV. Perigiugulari inferiori
- V. Sovraclaveari
- VI. Prelaringei, pretracheali, paratracheali e peritiroidei



**Figura 11:** Livelli linfonodali del collo

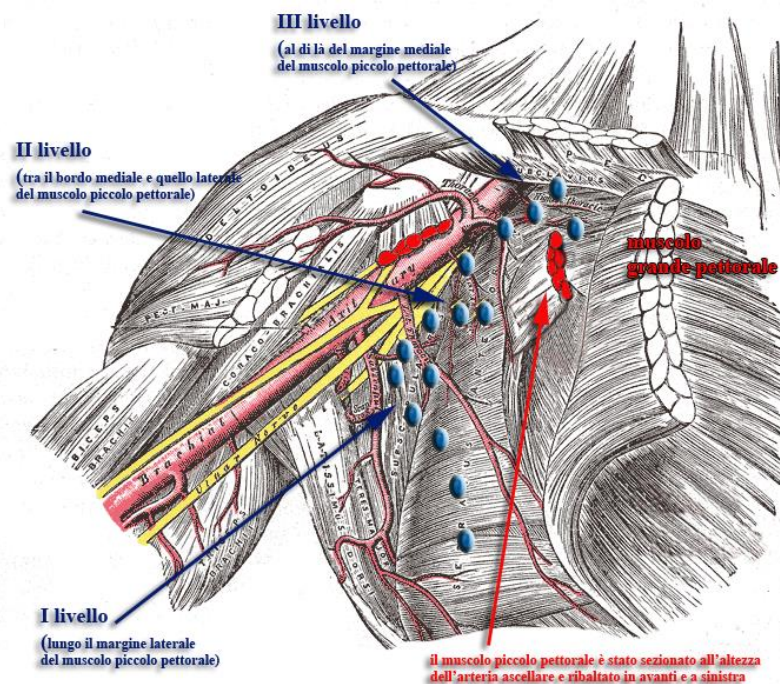
Nella dissezione sono comprese sempre le prime 5 stazioni, mentre la sesta viene asportata solo nel caso di adenopatie evidenti in tale sede.

L'intervento può essere o conservativo o demolitivo, nel caso in cui vi sia la presenza di una struttura eventualmente adesa o infiltrata dalla malattia. Solitamente le strutture che vengono demolite sono i muscoli platisma o sternocleidomastoideo, il nervo spinale e la vena giugulare interna. Di solito, però, la chirurgia demolitiva non ha un significato prognostico, bensì di controllo locale della malattia<sup>85</sup>.



Secondo le Linee Guida AIOM 2013, è necessario asportare da 8 a 25 linfonodi tra i livelli I e V<sup>104,105,106</sup>

- **Dissezione linfonodale ascellare:** comprendente i linfonodi dei tre livelli ascellari con asportazione o meno del muscolo piccolo pettorale. Per ottenere un'adeguata radicalità chirurgica è generalmente indicato estendere la linfoadenectomia a tutti e tre i livelli linfonodali fino all'imbocco della vena ascellare nel torace (Figura 12). Secondo le Linee Guida AIOM 2013, per la stadiazione devono essere asportati almeno 15-20 linfonodi (livello I-II-III)<sup>104,105,106</sup>.



**Figura 12:** Anatomia dei tre livelli linfonodali dell'ascella

- **Dissezione linfonodale inguino-iliaco-otturatoria** comprendente oltre ai linfonodi inguinali anche gli iliaci esterni e gli otturatori, in quanto una progressione linfonodale a livello iliaco darebbe una serie di effetti collaterali non facilmente controllabili dalla semplice terapia medica. Per una corretta stadiazione devono essere asportati un numero minimo di linfonodi da 12 a 18<sup>104,105,106</sup>.

#### 1.14 CHIRURGIA STADIO IIIC IN TRANSIT-IV

La chirurgia in questo caso ha solo un intento di radicalizzazione locale e può essere riservata come opzione terapeutica di scelta in pazienti con un solo secondarismo viscerale o in caso di oligometastasi (1 o 2 organi), particolarmente a livello dei tessuti molli e linfonodi distanti; in questo caso è dimostrato un vantaggio di sopravvivenza globale<sup>107</sup>. Dobbiamo tenere in considerazione che la sopravvivenza a 5 anni di pazienti con metastasi polmonari o ai tessuti molli va dal 14% al 33%<sup>108,109</sup>. Qualora dopo la chirurgia i pazienti risultino liberi da malattia può essere presa in considerazione una terapia adiuvante.

Nel caso di pazienti che si presentino con un primo episodio singolo di secondarismo in transit o satellitosi c'è indicazione alla resezione chirurgica con margini istologicamente liberi. In pazienti in cui viene asportato un secondarismo in transit, deve essere considerata l'opzione di ripetere l'applicazione della tecnica del linfonodo sentinella, per l'elevata probabilità di secondarismi linfonodali occulti<sup>110</sup>.

Nel caso sia impossibile eseguire una resezione chirurgica radicale, o per plurime riprese locoregionali a livello di un arto, viene preso in considerazione:

- a) Trattamento perfusionale in ipertermia con melphalan in associazione a TNF $\alpha$  (nel caso di malattia Bulky)<sup>111,112</sup>
- b) elettrochemioterapia

## **1.15 FOLLOW-UP**

Per pazienti con anamnesi positiva per melanoma anche in fase iniziale, è opportuno sottoporsi ad una visita specialistica annuale, al fine di sorvegliare qualsiasi lesione pigmentata, oltre che l'educazione all'autopalpazione (sia delle lesioni sospette, che delle stazioni linfonodali di drenaggio del sito). La frequenza dei controlli, inoltre, è in rapporto a diversi fattori, tra cui la positività all'anamnesi familiare, la presenza di nevi displastici ed il fototipo.

Nel caso di pazienti in stadio clinico IA sarebbe opportuno una visita specialistica a cadenza minima semestrale<sup>113,114</sup> per tre anni; nello stadio IB-III la visita specialistica, invece, è ogni 3-6 mesi per i primi tre anni, poi ogni 4-12 mesi nei successivi due ed in seguito annuali.

Per melanomi ad alto rischio (IIC-III) si ritiene opportuno l'utilizzo di esami strumentali quali TAC, PET e RMN, a cadenza semestrale/annuale in base allo stadio.

Dopo i tre anni dalla diagnosi vengono eseguiti esami radiologici di routine, quali RX torace ed Ecografia addominale ogni 6/12 mesi a discrezione del medico curante.

Per quanto riguarda la durata del follow-up, non esiste ancora un consenso unanime, perché generalmente le recidive avvengono nei primi 5 anni, ma sono state documentate anche dopo 10 anni dall'intervento<sup>115</sup>. Purtroppo il rapporto costi-benefici non giustifica un follow-up strumentale ristretto oltre i cinque anni dalla chirurgia, ma viene comunque raccomandato a vita un controllo annuale specialistico, poiché la possibilità di sviluppare un secondo melanoma esiste in una percentuale prossima al 4-8%.

# **2 PRESENTAZIONE DELLA RICERCA**

Un aumento della consapevolezza pubblica del danno inerente l'esposizione alla luce ultravioletta e il miglioramento delle tecniche di sorveglianza hanno indotto, nell'ultima decade, un costante aumento della sopravvivenza tra i pazienti con melanoma, legato soprattutto alla possibilità di effettuare diagnosi precoce, riscontrando sempre più pazienti con linfonodo sentinella negativo, in stadio I e II<sup>16</sup>. È importante considerare, però, come in molti paesi europei, il tasso di mortalità per melanoma sia in continuo aumento, dovuto all'aumento

dell'incidenza. Diversamente, in altri paesi, come Australia, Stati Uniti, Scandinavia e Regno Unito, le curve di mortalità sono stabili o iniziano a scendere<sup>116</sup>.

L'escissione locale ampia (WLE) e la biopsia al linfonodo sentinella (SLNB) sono ampiamente accettate come metodiche standard per un corretto trattamento del T e stadiazione linfatica (N) in pazienti con melanoma maligno<sup>117</sup>. Sono stati tuttavia sollevati dei dubbi riguardo l'efficacia di SLNB nel predire la sopravvivenza a lungo termine e la progressione di malattia<sup>118</sup>, rispetto ad altre caratteristiche clinico-patologiche (ad es. spessore di Breslow, ulcerazione, età e sesso) che invece danno previsioni migliori in termini di percentuali di recidiva e OVS.

L'accuratezza e riproducibilità del mappaggio linfonodale intraoperatorio e della tecnica biotica furono validati, ai fini della stadiazione precoce del melanoma, in un trial multicentrico pubblicato nel 1999<sup>95</sup>. Allo stesso tempo noi abbiamo aderito ad uno studio prospettico osservazionale multicentrico italiano (SOLISM-IMI; 2000-2002) sul mappaggio linfatico e la biopsia del linfonodo sentinella (SLNB) nel melanoma clinicamente localizzato, con l'obiettivo di studiare sia le influenze di alcuni aspetti tecnici delle metodiche stesse, sia l'impatto prognostico a lungo termine della Escissione Ampia Locale (WLE)/ Biopsia del linfonodo sentinella (SLNB)<sup>119,120</sup>.

Avendo dimostrato sia l'accuratezza nella stadiazione, sia la specificità patologica della tecnica della Biopsia del linfonodo sentinella, Morton ha postulato come questa alternativa minimamente invasiva alla linfadenectomia radicale, non solo ci permetta di identificare pazienti con metastasi linfonodali occulte, ma abbia anche un effetto favorevole sugli outcomes oncologici. Sulla base di ciò è stato progettato un trial controllato randomizzato (Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-I – MSLT-I) in pazienti con melanoma cutaneo primario clinicamente localizzato, a spessore intermedio, comparando la Biopsia del Linfonodo Sentinella seguita da linfadenectomia radicale immediata (per metastasi dello stesso) VS l'osservazione clinica e linfadenectomia nel momento in cui le metastasi linfonodali diventassero clinicamente evidenti<sup>121</sup>. I risultati di questo trial randomizzato (MSLT-I) hanno dimostrato l'accuratezza e riproducibilità della SLNB per melanoma di spessore intermedio<sup>136</sup> e hanno inoltre dimostrato un significativo miglioramento nella sopravvivenza libera da malattia (DFS) a 5 anni nel gruppo di pazienti sottoposti a WLE/SLNB (78.3% vs. 73.1%;  $p = 0.009$ ). MSLT-I, però, non è riuscito a rilevare un beneficio in termini di sopravvivenza melanoma-specifica (MSS) a 10 anni per i pazienti sottoposti a SLNB e linfadenectomia immediata rispetto a quelli sottoposti all'osservazione della stazione linfonodale interessata e la linfadenectomia secondaria a WLE (87.1% vs. 86.6%;  $p = 0.58$ ), eccetto per pazienti con linfonodo sentinella positivo, nei quali la linfadenectomia immediata migliora la

sopravvivenza a cinque anni (72.3% vs. 52.4%;  $p = 0.004$ )<sup>121</sup>. Basandosi sui risultati di questo trial, è stato successivamente suggerito che complessivamente l'impatto sulla sopravvivenza di questa procedura (SLNB) seguita da linfadenectomia immediata nel caso di presenza di metastasi linfonodali subcliniche, possa essere accertata con un follow-up più lungo (> 5 anni)<sup>69</sup>.

L'obiettivo di questo nostro studio, in pazienti con melanoma cutaneo primitivo clinicamente localizzato con linfonodi non clinicamente patologici, sottoposti a WLE/SLNB e linfadenectomia radicale regionale per metastasi linfonodali subcliniche documentate, è stato valutare:

- 1) impatto prognostico a lungo termine (10 anni) della SLNB seguito da linfadenectomia radicale, su Sopravvivenza Libera da Malattia (DFS: Disease Free Survival) e Sopravvivenza Melanoma Specifica (MSS: Melanoma Specific Survival);
- 2) fattori predittivi associati a metastasi linfonodali;
- 3) fattori predittivi associati a recidiva e Mortalità Melanoma Specifica (MMS).

# 3 MATERIALI E METODI

Questo è uno studio prospettico osservazionale monocentrico, su 289 pazienti consecutivi con melanoma cutaneo primitivo sottoposti ad Escissione Locale Ampia (WLE) e Biopsia del Linfonodo Sentinella (SLNB) da Gennaio 2000 a Dicembre 2007, e seguiti fino a Gennaio 2014 presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Anna di Ferrara. Questo trial clinico inizialmente (2000-2002) era inserito in uno studio prospettico osservazionale multicentrico italiano (SOLISM-IMI), precedentemente presentato<sup>119,120</sup>. Dopo questo periodo, e a seguito

dell'approvazione da parte del comitato etico locale, lo studio fu continuato nella nostra università, fino al 2007 senza significative modifiche metodologiche al protocollo clinico.

Tutti i pazienti con spessore di Breslow  $> 1$  mm o  $< 1$  mm con ulcerazione e/o livello di Clark IV-V sono stati sottoposti a mappaggio linfatico e Biopsia del Linfonodo Sentinella.

Lo stato del linfonodo sentinella è stato così classificato:

- macro-metastasi [ $>2$ mm)-N1];
- micro-metastasi [ $>0,2$  e  $\leq 2$ mm)];
- cellule tumorali isolate [ $\leq 0,2$ mm].

Se venivano identificate macro-metastasi o micro-metastasi linfonodali, i pazienti venivano sottoposti a linfadenectomia radicale compartimentale; non sono stati sottoposti a tale procedura i pazienti con cellule tumorali isolate rilevate all'analisi del linfonodo sentinella, o quei pazienti che hanno rifiutato la procedura.

I pazienti con metastasi cliniche diagnosticate in sede pre-operatoria attraverso la palpazione o l'ecografia sono stati esclusi dallo studio.

### **3.1 MAPPAGGIO DEL LINFONODO SENTINELLA**

I pazienti arruolati in questo studio sono stati sottoposti a linfoscintigrafia pre-operatoria con Tecnezio-99m solfuro colloidale (Nanocoll<sup>®</sup>, GE Healthcare S.r.l., Milano, Italy) entro 24 ore da WLE e SLNB. La dose raccomandata è 15-20 MBq, in un volume totale di 0.4 ml, e viene somministrata ad ogni paziente (da 0.4 a 0.5 mCi se l'iniezione era effettuata il giorno dell'intervento, o 2 mCi se effettuata il giorno prima dell'intervento). Il radiotracciante è stato iniettato a livello intradermico, prossimalmente (cefalico) e distalmente (caudale) al sito del melanoma primitivo o della biopsia escissionale, e a 90 gradi da questi siti di iniezione. A distanza di 2 ore dall'iniezione (durante le quali il paziente è stato istruito a massaggiare la regione iniettata al fine di migliorarne il drenaggio linfatico) sono state acquisite immagini planari statiche usando una sorgente di <sup>57</sup>Co per fornire un profilo del corpo e registrare sia il sito di iniezione che la distribuzione del radiotracciante iniettato. Il sito di maggior captazione è stato disegnato sul corpo del paziente, mentre le immagini sono servite per guidare l'escissione chirurgica del/i linfonodo/i sentinella (SLN).

### **3.2 PROCEDURA CHIRURGICA**



La procedura oncologica definitiva (WLE della lesione primitiva con margini chirurgici che dipendono dallo spessore di Breslow) viene fatta prima della biopsia del linfonodo sentinella (SLNB). Successivamente a questo, una sonda collegata ad un detettore di raggi gamma (ScintiProbe MR100 – Pol.hi.tech, Carsoli, Aquila, Italy), è stata usata per localizzare il/i linfonodo/i sentinella, sulla base della marcatura pre-operatoria e dell'imaging. Dopo aver selezionato, attraverso la sonda, il sito di massima captazione, viene eseguito a livello della sovrastante cute un'incisione; la sonda viene utilizzata per trovare linfonodo più caldo. Ulteriori linfonodi, oltre al SLN, vengono rimossi soltanto se hanno una captazione  $\geq 10\%$  del linfonodo più caldo. Tutti i linfonodi escissi vengono prontamente inviati per l'analisi istopatologica e immunoistochimica (IHC).

### **3.3 ANALISI PATOLOGICA**

Il/i linfonodo/i sentinella vengono sottoposti a sezionamento (almeno 10 sezioni seriali), in sezioni di 2-3mm, inclusi in blocchi di paraffina per la colorazione con ematossilina ed eosina (H&E) ed immunistochemica, per fattori melanoma specifici (antigeni associati, S100 e HMB-45 come descritto precedentemente<sup>82,95,122</sup>. I linfonodi contenenti cellule di melanoma (rilevate attraverso H&E ed IHC) vengono considerati positivi. Tutti i pazienti con SLN(s) positivo vengono sottoposti a linfadenectomia regionale radicale, poco dopo la diagnosi patologica finale.

### **3.4 FOLLOW-UP**

I partecipanti allo studio sono stati seguiti con esame clinico ed ecografia linfonodale ed addominale ad intervalli di 6 mesi per i primi 5 anni, poi annualmente. Ulteriori indagini radiologiche sono state eseguite solo quando ritenuto necessario.

Durante il follow-up, sono state considerate diverse categorie di recidiva:

- recidive locali (cutanee);
- metastasi in-transit
- metastasi linfonodali nello stesso comparto del linfonodo sentinella
- metastasi linfonodali in altro comparto rispetto a quello del linfonodo sentinella
- metastasi a distanza.

I pazienti con linfonodo sentinella negativo che hanno sviluppato metastasi linfonodali regionali durante il periodo di follow-up senza precedenti recidive locali o metastasi in transit sono stati considerati Falsi Negativi (FN) ( a differenza dei pazienti che hanno sviluppato metastasi ma che avevano cti al linfonodo sentinella).

Il Tasso di Falsi Negativi (FNR - false negative rate) per SLNB è stato calcolato come il numero di FN diviso il numero di Veri Positivi (VP, vale a dire i pazienti con SLN positivo) più i casi FP, moltiplicato per 100.

I pazienti che sviluppano metastasi a distanza o metastasi in-transit durante il periodo di follow-up non erano considerati falsi negativi.

### **3.5 ANALISI STATISTICA**

Il test di Shapiro-Wilk è stato usato per valutare l'assunzione di normalità ed i dati sono stati espressi come mediana (interquartile range - IQR 25-75) secondo la distribuzione. I dati categoriali sono presentati come numeri assoluti e percentuali (%). Questi sono stati analizzati utilizzando il Chi-quadro e i test di Mann-Whitney a seconda dei casi.

I dati sulla sopravvivenza attuariale sono stati calcolati a partire dalla data della biopsia del linfonodo sentinella fino al momento della morte conosciuta o al più recente follow-up. I pazienti persi al follow-up sono stati censurati. La Sopravvivenza Libera da Malattia (DFS) è stata calcolata come il periodo di tempo dopo SLNB durante il quale non è stata diagnosticata al paziente alcuna malattia. Nell'analisi della sopravvivenza sono stati considerati solo i decessi causati da melanoma cutaneo (definiti come pazienti deceduti in assenza di altre complicanze mediche).

MSS (Sopravvivenza Specifica per Melanoma) e DFS sono state stimate utilizzando lo stimatore del prodotto limite di Kaplan-Meier. È stato eseguito un long rank test per determinare se ci fossero differenze nella distribuzione di sopravvivenza per le diverse variabili cliniche.

L'analisi di regressione logistica è stata impiegata per valutare i fattori associati a metastasi al linfonodo sentinella, mentre l'analisi di regressione di Cox è stata effettuata per valutare i predittori di recidiva e mortalità melanoma specifica (MSM). Nell'analisi multivariata i fattori considerati come potenziali confondenti erano sesso, età, spessore di Breslow, ulcerazione e lo stato del Linfonodo Sentinella.

Il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman è stato usato per determinare la relazione tra lo Spessore di Breslow e il Livello di Clark: trovando una correlazione forte e positiva tra queste variabili, statisticamente significativa ( $r_s = 0.698$ ,  $p < 0.0001$ ), il livello di Clark è stato escluso dall'analisi di regressione.

La significatività è stata presa in considerazione per valori di  $p < 0,05$ .

Le analisi statistiche sono state eseguite con IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0 (IBM Corp. Released 2011. Armonk, NY: IBM Corp.).

# 4 RISULTATI

Tra Gennaio **2000** e Dicembre **2007**, **289** pazienti successivi con **melanoma cutaneo** primario **localizzato**, con linfonodi **clinicamente negativi**, sono stati operati presso il Dipartimento di Chirurgia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Anna di Ferrara, e seguiti fino a Gennaio **2014**. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad ampliamento della pregressa cicatrice chirurgica della presa bioptica (**WLE**) e Biopsia del linfonodo sentinella (**SLNB**), con immediata linfoadenectomia radicale compartimentale nel caso di metastasi (macro o micro) al linfonodo sentinella, istologicamente documentate.

#### 4.1 DATI E SOGGETTI ANALIZZATI

Il numero medio di linfonodi sentinella asportati è stato uno (1-2). Il SLN è risultato positivo in 64 pazienti (22,1%) e negativo in 225 (77,9%).

Tra i pazienti con SLN positivo, 38 (59,4%) avevano macro-metastasi, e 5 di loro hanno rifiutato la linfadenectomia radicale; 21 (32,8%) avevano micro-metastasi, e 6 di loro hanno rifiutato la linfadenectomia regionale; 5 (7,8%) avevano cellule tumorali isolate, ai quali la procedura di radicalizzazione non è stata proposta.

La percentuale di falsi negativi per SLNB è stata 13,2% (9/68), ossia 9 pazienti con SLN negativo hanno sviluppato metastasi nello stesso comparto del SLN durante il periodo di follow-up.

La Tabella V riassume le caratteristiche dei pazienti e del tumore in rapporto con lo stato del SLN, suggerendo che le metastasi linfonodali sono più comuni:

- in pazienti con età > 60 anni
- spessore di Breslow > 2 mm
- livello di Clark IV-V
- melanoma ulcerato.

| <b>VARIABILI</b>          | <b>Linfonodo Sentinella<br/>Negativo<br/>(N = 225)</b> | <b>Linfonodo Sentinella<br/>Positivo<br/>(N = 64)</b> | <b>p</b> |
|---------------------------|--|---|----------|
| <b>Sesso [N (%)]</b>      |  |   | 0.156    |
| Maschi                    | 113 (50.2)   | 39 (60.9)   |          |
| Femmine                   | 112 (49.8)   | 25 (39.1)   |          |
| <b>Età (anni) [N (%)]</b> |  |   | 0.032    |
| ≤ 40                      | 42 (18.7)  | 13 (20.3)   |          |
| 41 – 60                   | 99 (44.0)  | 17 (26.6)   |          |
| > 60                      | 84 (37.3)  | 34 (53.1)   |          |

|  |            |           |        |
|--|------------|-----------|--------|
| <b>Spessore di Breslow*</b> (mm) [N (%)] |            |           | <0.001 |
| ≤ 1                                      | 84 (40.4)  | 4 (6.5)   |        |
| 1<B≤2                                    | 78 (37.5)  | 16 (25.8) |        |
| 2<B≤4                                    | 36 (17.3)  | 24 (38.7) |        |
| > 4                                      | 10 (4.8)   | 18 (29.0) |        |
| <b>Livello di Clark†</b> [N (%)]         |            |           | <0.001 |
| I-II                                     | 45 (21.8)  | 2 (3.3)   |        |
| III                                      | 95 (46.1)  | 18 (30.0) |        |
| IV                                       | 62 (30.1)  | 34 (56.7) |        |
| V  | 4 (1.9)    | 6 (10.0)  |        |
| <b>Ulcerazione‡</b> [N (%)]              |            |           | <0.001 |
| Assente                                  | 181 (83.0) | 30 (47.6) |        |
| Presente                                 | 37 (17.0)  | 33 (52.4) |        |

\*Spessore di Breslow non era disponibile in 19 pazienti; †Livello di Clark non era disponibile in 23 pazienti; ‡ Ulcerazione non era disponibile in 8 pazienti

**Tabella V:** dati demografici e caratteristiche del tumore

La Tabella VI mostra che in pazienti di età superiore ai sessanta anni, prevalgono significativamente melanomi ulcerati con spessore di Breslow > 2 mm e linfonodo sentinella positivo.

|                                 | <b>Spessore di Breslow*</b> |                              | <b>Ulcerazione†</b>       |                             | <b>Stato del SLN</b>        |                             | <b>p</b> |
|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------|
|                                 | <b>≤ 2 mm</b><br>(N=182)    | <b>&gt; 2 mm</b><br>(N = 88) | <b>Assente</b><br>(N=211) | <b>Presente</b><br>(N = 70) | <b>Negative</b><br>(N =225) | <b>Positive</b><br>(N = 64) |          |
| <b>Età</b>                      |                             |                              | <b>P</b>                  |                             | <b>p</b>                    |                             |          |
|                                 |                             |                              | <0.001                    |                             | <0.001                      |                             | 0.030    |
| <b>≤ 60 anni</b><br>(N = 171)   | 67.6%                       | 44.3%                        | 66.8%                     | 37.1%                       | 62.7%                       | 46.9%                       |          |
| <b>&gt;60 anni</b><br>(N = 118) | 32.4%                       | 55.7%                        | 33.2%                     | 62.9%                       | 37.3%                       | 53.1%                       |          |

\* Spessore di Breslow non era disponibile in 19 pazienti; † Ulcerazione non era disponibile in 8 pazienti.

**Tabella VI:** Caratteristiche dei pazienti raggruppati per età

## 4.2 IMPATTO PROGNOSTICO A LUNGO TERMINE (10 ANNI) DI SLNB: RISULTATI DELLE ANALISI, DFS E MSS

La mediana del follow-up è stata 116 mesi (range 79-147).

30 pazienti su 225 (13,3%) con SLN negativo hanno sviluppato recidiva durante il periodo di follow-up, e 19 di questi (63,3%) sono morti. Nella maggior parte dei pazienti le recidive si sono verificate entro i primi 5 anni (22/20; 73,3%), mentre i restanti pazienti hanno presentato le recidive nel corso dei successivi 4 anni (8/30;26,7%).

26 dei 64 pazienti (40,6%) con SLN positivo hanno sviluppato recidiva durante il periodo di follow-up, e 21 di questi (80,8%) sono morti. La maggior parte dei decessi osservati durante il periodo di follow-up si sono verificati entro i primi cinque anni (75%; 30/40), mentre gli altri decessi si sono verificati nel corso dei cinque anni successivi (25%; 10/40). Di quest'ultimi, 8 pazienti su 10, avevano SLN negativo al momento dell'esame istologico.

In tutta la popolazione oggetto di studio, si vede come a 5 e 10 anni:

- 1) il tasso di mortalità melanoma-specifica (MMS) è stata del 12% (30/251) e 28,4% (40/141), rispettivamente;
- 2) la sopravvivenza libera da malattia (DFS) è stata 84,2% e 79,6%, rispettivamente;
- 3) la sopravvivenza melanoma-specifica (MSS) è stata 89,4% e 85,9%, rispettivamente.

La Tabella VII mostra DFS ed MSS a 5 e 10 anni in relazione ad età dei pazienti, sesso, caratteristiche del tumore, stato del SLN e stadio AJCC. DFS ed MSS a 5 e 10 anni erano significativamente più basse nei maschi e nei pazienti con età > 60 anni, con melanoma ulcerato e metastasi al linfonodo sentinella (Tabella VII, Figura 14-15). Inoltre, un aumento sia dello spessore di Breslow sia del livello di Clark determina una riduzione significativa di DFS ed MSS.

DFS e MSS sono statisticamente differenti tra i pazienti di stadio AJCC I,II e III ( $p < 0,001$ ) (Tabella VII, Figura 14-15); tuttavia, non ci sono state differenze statisticamente significative tra i pazienti in stadio IIB,IIC e III per quanto riguarda DFS a 10 anni, e tra i pazienti in fase IIC e III relativamente a MSS a 10 anni.

| Variabili              | Disease Free Survival |            |             | P     | Melanoma Specific Survival |             |       |
|------------------------|-----------------------|------------|-------------|-------|----------------------------|-------------|-------|
|                        | Totale                | 5-Year (%) | 10-Year (%) |       | 5-Year (%)                 | 10-Year (%) | P     |
| <b>Genere</b>          |                       |            |             | 0.040 |                            |             | 0.012 |
| Maschi                 | 152                   | 78.5       | 75.5        |       | 84.4                       | 81.0        |       |
| Femmine                | 137                   | 90.5       | 84.1        |       | 94.8                       | 91.4        |       |
| <b>Età (anni)</b>      |                       |            |             | 0.002 |                            |             | 0.003 |
| ≤ 40                   | 55                    | 90.7       | 84.6        |       | 90.8                       | 90.8        |       |
| 41-60                  | 116                   | 88.7       | 87.8        |       | 93.9                       | 92.8        |       |
| >60                    | 118                   | 76.8       | 69.2        |       | 84.3                       | 76.8        |       |
| <b>Sede del Tumore</b> |                       |            |             | 0.255 |                            |             | 0.800 |

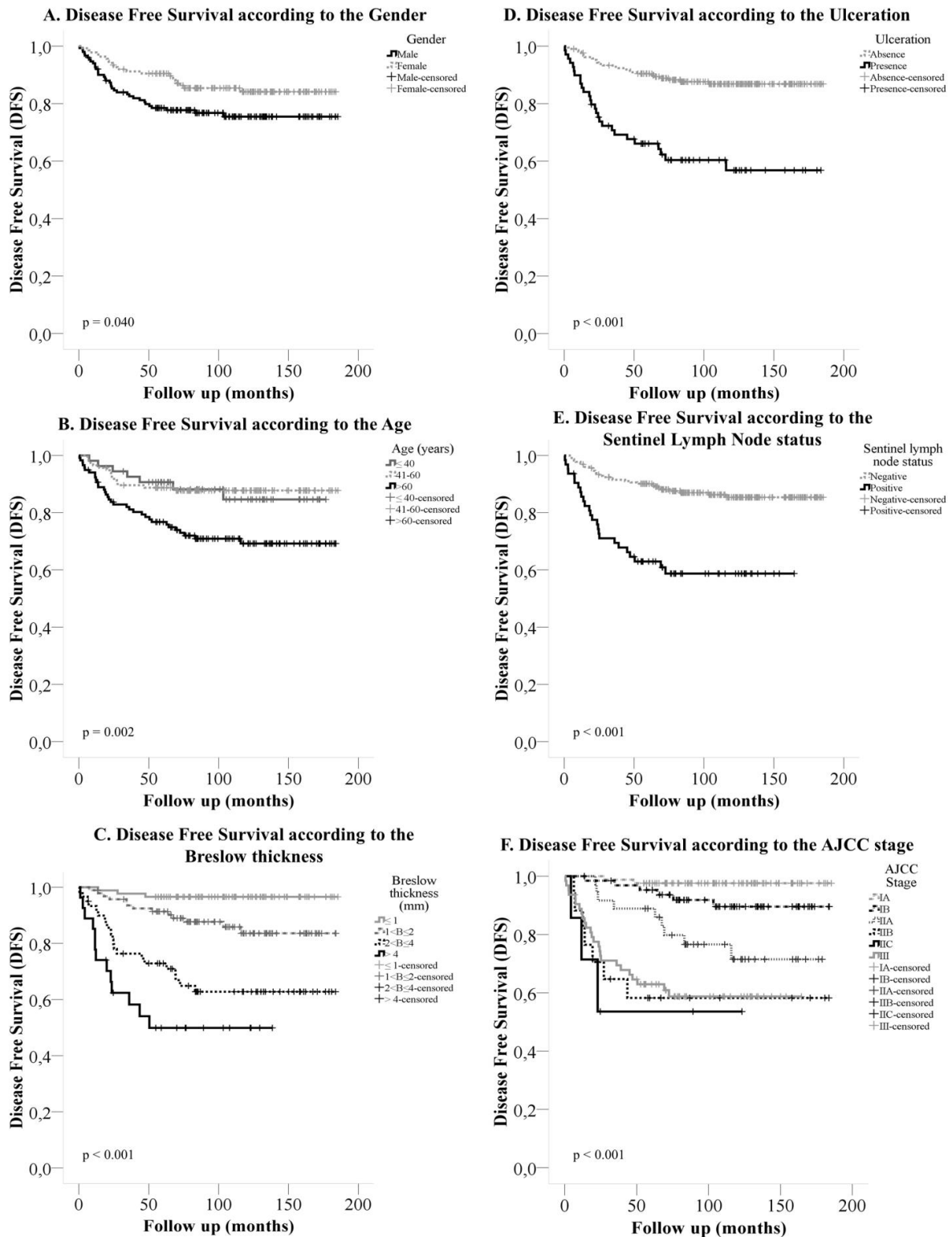
|                                  |     |       |       |        |       |        |
|----------------------------------|-----|-------|-------|--------|-------|--------|
| Arti superiori                   | 58  | 86.0  | 84.0  |        | 94.7  | 91.2   |
| Arti inferiori                   | 99  | 82.5  | 72.0  |        | 89.7  | 82.7   |
| Tronco                           | 118 | 85.6  | 84.4  |        | 87.2  | 86.3   |
| Testa-collo                      | 14  | 77.9  | 77.9  |        | 83.3  | 83.3   |
| <b>Spessore di Breslow*</b> (mm) |     |       |       | <0.001 |       | <0.001 |
| ≤ 1                              | 88  | 96.6  | 96.6  |        | 98.9  | 97.7   |
| 1<B≤2                            | 94  | 91.4  | 83.6  |        | 93.5  | 90.7   |
| 2<B≤4                            | 60  | 72.9  | 62.8  |        | 82.9  | 75.5   |
| > 4                              | 28  | 49.9  | 49.9  |        | 58.6  | 50.5   |
| <b>Livello di Clark†</b>         |     |       |       | <0.001 |       | <0.001 |
| I-II                             | 47  | 100.0 | 100.0 |        | 100.0 | 100.0  |
| III                              | 113 | 86.7  | 85.3  |        | 91.2  | 90.2   |
| IV                               | 96  | 80.8  | 68.0  |        | 86.0  | 78.1   |
| V                                | 10  | 38.9  | 38.9  |        | 55.6  | 44.4   |
| <b>Ulcerazione‡</b>              |     |       |       | <0.001 |       | <0.001 |
| Assente                          | 211 | 90.4  | 86.8  |        | 93.2  | 90.4   |
| Presente                         | 70  | 66.1  | 56.8  |        | 78.0  | 71.9   |
| <b>Stato del LNS</b>             |     |       |       | <0.001 |       | <0.001 |
| Negativo                         | 225 | 90.1  | 85.4  |        | 95.0  | 91.4   |
| Positivo                         | 64  | 62.9  | 58.7  |        | 69.7  | 66.4   |
| <b>Stadio AJCC§</b>              |     |       |       | <0.001 |       | <0.001 |
| Stadio IA                        | 83  | 97.6  | 97.6  |        | 98.8  | 95.7   |
| Stadio IB                        | 65  | 95.3  | 89.6  |        | 95.2  | 92.9   |
| Stadio IIA                       | 36  | 88.9  | 71.5  |        | 91.7  | 79.9   |
| Stadio IIB                       | 17  | 58.2  | 58.2  |        | 82.4  | 82.4   |
| Stadio IIC                       | 7   | 53.6  | 53.6  |        | 85.7  | 42.9   |
| Stage III                        | 64  | 62.9  | 58.7  |        | 69.7  | 66.4   |

\*Spessore di Breslow non era disponibile in 19 pazienti; †Livello di Clark non era disponibile in 23 pazienti;

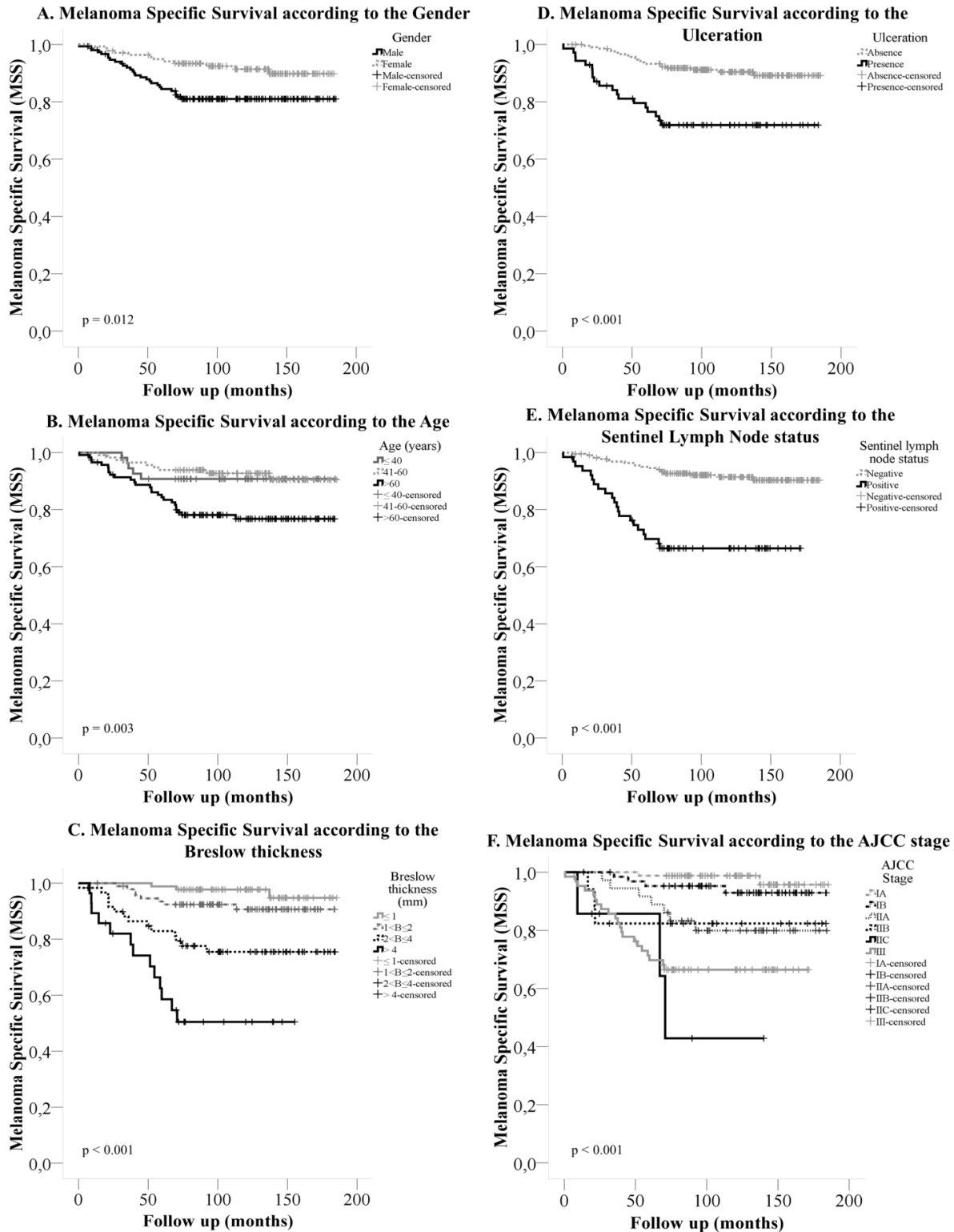
‡Ulcerazione non era disponibile in 8 paziente

**Tabella VII:** 5 e 10 anni di Sopravvivenza Liberi da Malattia (DFS) e Sopravvivenza Melanoma Specifica (MSS) in base alle caratteristiche di pazienti e del tumore





**Figura 13.** Sopravvivenza Libera da Malattia (DFS) dei pazienti in rapporto alle caratteristiche del paziente, della malattia e allo stadio AJCC



**Figura 14.** Sopravvivenza Melanoma Specifica (MSS) dei pazienti in rapporto alle caratteristiche del paziente, della malattia e allo stadio AJCC

### 4.3 FATTORI PREDITTIVI ASSOCIATI A METASTASI AL LINFONODO SENTINELLA

L'analisi di regressione logistica, con e senza aggiustamenti, dimostra che solo l'aumento dello spessore di Breslow della lesione primaria è **indipendentemente** associato alle metastasi del linfonodo sentinella (Tabella VIII).

| Variabili                                | Metastasi al linfonodo sentinella |        |                     |        |
|--|-----------------------------------|--------|---------------------|--------|
|  | Modello non aggiustato            |        | Modello aggiustato  |        |
|  | Odds Ratio (95% CI)               | p      | Odds Ratio (95% CI) | P      |
| <b>Sesso</b> (ref: femmine)              |                                   |        |                     |        |
| Maschi                                   | 1.55 (0.88-2.72)                  | 0.131  | 1.46 (0.71-3.02)    | 0.305  |
| <b>Età</b> (ref: ≤ 40 anni)              |                                   |        |                     |        |
| 41-60                                    | 0.56 (0.25-1.24)                  | 0.153  | 0.54 (0.21-1.40)    | 0.202  |
| >60                                      | 1.31 (0.63-2.74)                  | 0.477  | 0.81 (0.33-1.99)    | 0.640  |
| <b>Spessore di Breslow</b> (ref: ≤ 1 mm) |                                   |        |                     |        |
| 1<B≤2                                    | 4.31 (1.38-13.45)                 | 0.012  | 3.43 (1.07-11.07)   | 0.039  |
| 2<B≤4                                    | 14.00 (4.53-43.26)                | <0.001 | 9.32 (2.80-30.99)   | <0.001 |
| > 4                                      | 37.80 (10.65-134.11)              | <0.001 | 21.45 (5.41-85.43)  | <0.001 |
| <b>Ulcerazione</b> (ref: assente)        |                                   |        |                     |        |
| Presente                                 | 5.38 (2.93-9.88)                  | <0.001 | 1.98 (0.95-4.13)    | 0.070  |

**Tabella VIII:** Associazione tra le caratteristiche del paziente e tumore e le metastasi al linfonodo sentinella secondo gli aggiustamenti dell'analisi di regressione logistica per i potenziali confondenti

### 4.4 FATTORI PREDITTIVI DI RECIDIVA E MMS

Le analisi di regressione di Cox, senza aggiustamenti, dimostrano che:

- 1) le recidive sono significativamente associate al sesso maschile, all'età >60 anni, all'aumento dello spessore di Breslow, alla presenza di ulcerazione e alle metastasi LNS;
- 2) MSM è significativamente associata al sesso maschile, spessore di Breslow > 2 mm, alla presenza di ulcerazione e alle metastasi LNS (Tabella IX).

Dopo gli aggiustamenti per i potenziali confondenti solo lo spessore di Breslow > 2 mm rimane significativamente associato alla presenza di recidive; sesso maschile e spessore di Breslow > 2 mm sono significativamente associati a MMS (Tabella IX).

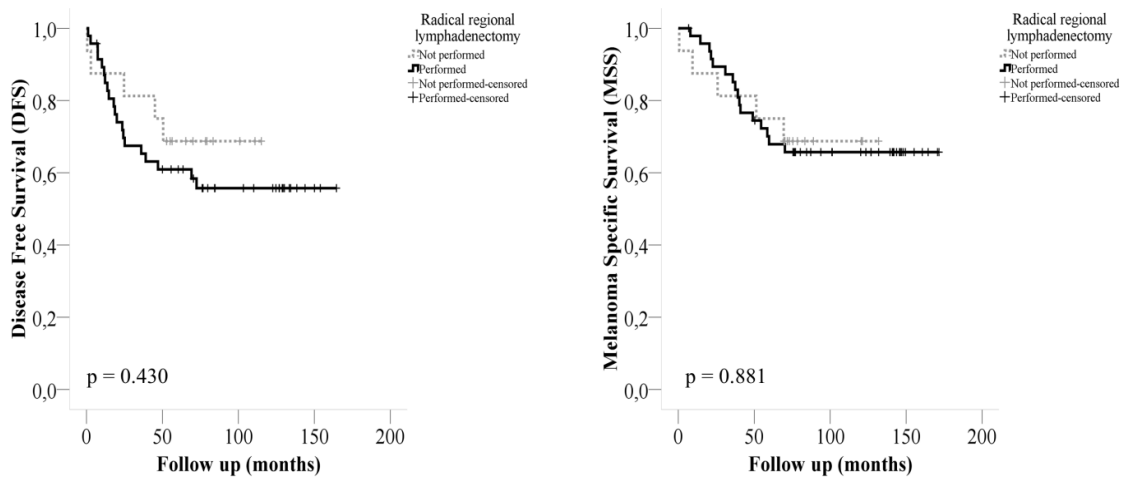
Inoltre, l'analisi di regressione di Cox completa ed aggiustata mostra che la presenza di metastasi al LNS non è significativamente associata né a recidiva, né a MSM (Tabella IX).

| Caratteristiche                               | Recidiva               |        |                      |       | MMS (Mortalità Melanoma Specifica) |        |                      |       |
|---|------------------------|--------|----------------------|-------|------------------------------------|--------|----------------------|-------|
|   | Modello non aggiustato |        | Modello aggiustato   |       | Modello non aggiustato             |        | Modello aggiustato   |       |
|   | Hazard Ratio (95%CI)   | P      | Hazard Ratio (95%CI) | P     | Hazard Ratio (95%CI)               | P      | Hazard Ratio (95%CI) | P     |
| <b>Sesso</b> (ref: femmine)                   |                        |        |                      |       |                                    |        |                      |       |
| Maschi  | 1.76 (1.02-3.06)       | 0.043  | 1.58 (0.88-2.84)     | 0.125 | 2.33 (1.19-4.59)                   | 0.014  | 2.15 (1.06-4.39)     | 0.035 |
| <b>Età</b> (ref: ≤ 40 anni)                   |                        |        |                      |       |                                    |        |                      |       |
| 41-60   | 0.92 (0.37-2.29)       | 0.864  | 1.06 (0.40-2.85)     | 0.901 | 0.83 (0.28-2.48)                   | 0.738  | 1.12 (0.34-3.77)     | 0.851 |
| >60   | 2.43 (1.08-5.48)       | 0.032  | 1.89 (0.78-4.58)     | 0.157 | 2.59 (0.99-6.75)                   | 0.051  | 2.67 (0.92-7.79)     | 0.072 |
| <b>Spessore di Breslow</b>                    |                        |        |                      |       |                                    |        |                      |       |
| (ref: ≤ 1 mm)                                 |                        |        |                      |       |                                    |        |                      |       |
| 1<B≤2   | 4.22 (1.20-14.79)      | 0.025  | 3.01 (0.84-10.73)    | 0.090 | 2.63 (0.70-9.91)                   | 0.153  | 1.76 (0.46-6.76)     | 0.411 |
| 2<B≤4   | 12.56 (3.74-42.12)     | <0.001 | 7.01 (1.96-25.09)    | 0.003 | 8.05 (2.31-28.01)                  | 0.001  | 4.63 (1.24-17.25)    | 0.002 |
| > 4   | 22.63 (6.43-79.62)     | <0.001 | 9.08 (2.24-36.92)    | 0.002 | 20.58 (5.85-72.40)                 | <0.001 | 9.04 (2.18-37.47)    | 0.002 |
| <b>Ulcerazione</b> (ref: assente)             |                        |        |                      |       |                                    |        |                      |       |
| Presente                                      | 4.03 (2.35-6.92)       | <0.001 | 1.58 (0.82-3.05)     | 0.177 | 3.43 (1.83-6.43)                   | <0.001 | 0.99 (0.47-2.10)     | 0.993 |
| <b>SLN<sup>†</sup> status</b> (ref: negativo) |                        |        |                      |       |                                    |        |                      |       |
| Positivo                                      | 3.78 (2.22-6.44)       | <0.001 | 1.45 (0.77-2.72)     | 0.250 | 4.77 (2.56-8.88)                   | <0.001 | 1.70 (0.84-3.46)     | 0.142 |

<sup>†</sup>SLN – Linfonodo Sentinella.

**Tabella IX:** Associazione tra le caratteristiche del paziente e del tumore e recidive più mortalità melanoma specifica a 10 anni, secondo gli aggiustamenti dell'analisi di regressione di Cox per i potenziali confondenti

Un'analisi di sopravvivenza per sottogruppi, che mette a confronto i pazienti sottoposti a linfadenectomia radicale compartimentale dopo SLNB (N=48) e i pazienti in cui la procedura non è stata eseguita (N=16), dimostra che non c'è differenza statisticamente significativa in termini di DFS a 10 anni (55,7% vs 68,8%; p=0.430) e di MSS a 10 anni (65,7% vs 68,8%; p=0.881) tra i due sottogruppi (Figura 16).



**Figura 15.** DFS e MSS nei due sottogruppi di pazienti, sottoposti o meno a linfadenectomia radicale dopo SLNB

# **5 DISCUSSIONE**

Questo studio prospettico osservazionale su pazienti con melanoma, sottoposti a WLE/SLNB e linfadenectomia regionale radicale per metastasi linfonodali subcliniche documentate, dimostra che:

1. DFS e MSS a 10 anni sono significativamente più basse in pazienti di sesso maschile e in quelli di età > 60 anni, con melanoma ulcerato e metastasi al linfonodo sentinella. Un aumento sia dello spessore di Breslow, che del livello di Clark determina un decremento significativo di DFS ed MSS;
2. Solo l'aumento dello spessore di Breslow risulta indipendentemente associato ad un aumentato rischio di metastasi al linfonodo sentinella;
3. Solo lo spessore di Breslow > 2 mm è un fattore predittivo indipendente di recidiva; il sesso maschile e lo spessore di Breslow > 2 mm sono fattori predittivi indipendenti di MSM.
4. Le analisi di regressione di Cox hanno rilevato che le metastasi al linfonodo sentinella non sono significativamente associate né alla comparsa di recidiva, né a MSM a 10 anni.

I Pazienti con SLN negativo e spessore di Breslow>2 mm (AJCC stage II) devono essere considerati pazienti ad alto rischio per comparsa di recidiva e MSM.

## **5.1 IMPATTO PROGNOSTICO A LUNGO TERMINE (10 ANNI) DI SLNB: RISULTATI DELLE ANALISI, DFS E MSS**

Nel MSLT-I, Morton e colleghi hanno riportato come pazienti affetti da melanoma, con spessore di Breslow intermedio (da 1,2 mm a 3,5 mm) e sottoposti a WLE/SLNB e linfadenectomia immediata, il tasso di mortalità a 5 anni fosse del 12,5% (96/769 pazienti), il tasso di MSS e DFS a 5 anni fosse dell'87,1% e 78,9%, rispettivamente<sup>121</sup>.

Nel nostro studio, lo spessore di Breslow mediano è 1,4 mm (range 0,9-2,6 mm) ed i nostri risultati si confrontano bene con quelli di Morton per quanto riguarda il tasso di mortalità per melanoma a 5 anni (12%) ed il tasso di sopravvivenza melanoma specifica a 5 anni (89,4%); inoltre, il tasso di MSS era leggermente più basso a 10 anni (85,9%). Interessante risulta il fatto che nel nostro studio il tasso di DFS a 5 anni di follow-up era più alto rispetto allo studio di Morton (84,2% contro 78,3% rispettivamente), mentre era comparabile a 10 anni (79,6%). Le analisi della nostra popolazione di studio mostrano una riduzione della sopravvivenza prevista nei 5 anni del periodo di follow-up, ossia la maggior parte delle morti è osservata entro i primi cinque anni (30/40; 75%), mentre le rimanenti morti si verificavano nei cinque anni successivi

(10/40; 25%). Di quest'ultime, 8 morti su 10 sono avvenute in pazienti con SLN negativo al momento dell'esame patologico. Questo suggerisce una minor progressione di malattia in alcuni pazienti, supportato da un iniziale SLN negativo e un possibile impatto sulla DSF e MSS di altri fattori rispetto allo stato del LNS.

Questa ipotesi è supportata dai dati del Database AJCC sul melanoma del 2008: nei pazienti con linfonodo sentinella negativo, il tasso di sopravvivenza a 10 anni va dal 93% per lo stadio IA al 39% per lo stadio IIC. Nel nostro studio, l'analisi di sopravvivenza secondo la stratificazione AJCC ha mostrato che DFS e MSS sono statisticamente differenti tra i pazienti in stadio I,II e III ( $p < 0.001$ ), e questi dati correlano con quelli dello studio di Balch; tuttavia, nel nostro studio non ci sono state differenze statisticamente significative tra i pazienti in stadio IIB, IIC e III per quanto riguarda DFS a 10 anni, e tra i pazienti in stadio IIC e III relativamente a MSS a 10 anni. Questo suggerisce un comportamento simile, a 10 anni, tra alcuni pazienti con linfonodo sentinella negativo e altri con linfonodo sentinella positivo.

Lo studio MSLT-I non ha dimostrato una significativa differenza nella MSS a 10 anni, correlata al trattamento, nei pazienti sottoposti ad immediata linfadenectomia radicale compartimentale per SLN positivo rispetto ai pazienti sottoposti ad osservazione e linfadenectomia differita al momento dell'evidenza clinica delle metastasi.

In merito a questo, abbiamo valutato DSF e MSS a 10 anni nei nostri pazienti seguendo i medesimi parametri: non abbiamo dimostrato significative differenze tra i due sottogruppi. Così, la linfadenectomia radicale compartimentale nei pazienti SLN+ sembra non aver alcun effetto significativo correlato al trattamento in DSF e MSS a 10 anni.

Tuttavia, a causa dell'esiguo numero di pazienti e del disegno dello studio, i dati devono essere interpretati con cautela.

In accordo con Morton, nel nostro studio queste differenze tra pazienti con SLN negativo e positivo sono mantenute anche dopo i 10 anni di follow-up.

Inoltre, in base alle caratteristiche del paziente e del tumore, le analisi di sopravvivenza mostrano che il DFS ed MSS a 10 anni è significativamente più basso nei maschi ed in quelli con > 60 anni e melanoma ulcerato (Tabella IX). In aggiunta, un aumento sia dello spessore di Breslow, che del livello di Clark determinano una riduzione significativa del DFS ed MSS (Tabella IX).

## **5.2 FATTORI PREDITTIVI DI METASTASI AL LINFONODO SENTINELLA**



White e colleghi, in un'analisi di regressione retrospettiva multicentrica su 1526 pazienti, conferma il valore predittivo di alcune variabili, come lo spessore di Breslow, l'ulcerazione e la giovane età, come fattori predittivi di positività del linfonodo sentinella<sup>123</sup>; questi dati sono, inoltre, supportati da altri autori<sup>124</sup>. Chao e colleghi hanno dimostrato che l'incidenza delle metastasi linfonodali diminuisce con l'aumentare dell'età<sup>125</sup>. È stato ipotizzato che l'aumento dell'immuno-competenza nei pazienti più giovani possa spiegare la tendenza verso una maggior positività del SLN, prima della comparsa delle metastasi a distanza<sup>125</sup>, in questa fascia di età. Carlson ha ulteriormente proposto come l'atrofia dei vasi linfatici dermici e l'alterato sistema di presentazione dell'antigene negli anziani, potesse predisporre questa popolazione ad una diffusione per via ematica del melanoma, piuttosto che per via linfatica<sup>126</sup>. Contestualmente, tumori con spessore di Breslow minore ma con indice mitotico più alto ( $> 10$  mitosi/mm<sup>2</sup>), hanno un'augmentata suscettibilità alla diffusione linfatica, e queste neoplasie sono più comuni in pazienti più giovani<sup>127,128,129</sup>.

Nei pazienti più anziani ( $> 60$  anni) la positività del linfonodo sentinella è associata con un maggior spessore ed ulcerazione; questa tendenza alla maggior aggressività della malattia nella popolazione più anziana è stato ipotizzato essere correlata ad una mancanza di auto-esame e ad una tendenza a confondere il melanoma nelle fasi precoci, con altri cambiamenti della cute età-correlati, come la cheratosi seborroica<sup>130,131</sup>. Ancora, i pazienti più anziani tendono a trascurare i segni precoci del melanoma, come cambiamenti del colore e della forma, ma più spesso riconoscono i segni più inquietanti del melanoma avanzato, come ulcerazione e sanguinamenti<sup>132</sup>.

In contrasto a Chao<sup>125</sup> e Carlson<sup>126</sup>, nel nostro studio l'incidenza delle metastasi linfonodali aumenta con l'aumentare dell'età (Tabella V). Questo risultato può essere supportato dal fatto che, nel nostro studio, i pazienti con spessore di Breslow  $> 2$  mm ( $p < 0,001$ ), ulcerazione ( $p < 0,001$ ) e SLN positivo ( $p = 0,03$ ) erano più frequenti in pazienti più anziani ( $> 60$  anni) (Tabella VI). Inoltre, le metastasi linfonodali sono più comuni in pazienti con spessore di Breslow  $> 2$  mm, livello di Clark IV-V ed ulcerazione (Tabella V). Tuttavia, l'analisi di regressione logistica aggiustata mostra che solo l'aumento dello spessore di Breslow della lesione primaria rimane indipendentemente associato alle metastasi linfonodali (Tabella VIII).

In questo studio, il tasso di falsi negativi per SLNB (13,2%) si compara molto bene con altri reports nei quali la distribuzione del tasso dei falsi negativi variava da 0% a 34%, mentre la stima della media ponderata era del 12,5% (95% CI, 11,0% to 14,2%)<sup>133</sup>, e questo supporta i nostri risultati in termini di riproducibilità della tecnica del SLNB.

### 5.3 FATTORI PREDITTIVI DI RECIDIVA E MMS

La prognosi infausta associata al melanoma metastatico, rispetto alla malattia in stadio precoce, è alla base dell'importanza di definire i fattori prognostici per la progressione della malattia e la sopravvivenza a lungo termine. Alcuni autori suggeriscono che lo spessore di Breslow e i livelli di Clark siano i fattori che influenzano maggiormente la sopravvivenza a lungo termine<sup>120,134,67</sup>, ed hanno dimostrato le due variabili essere collegate<sup>135</sup>.

E' stato dimostrato che altri fattori, tra cui l'aumento dell'età ed il sesso maschile, influenzino in modo significativo la sopravvivenza a 5 anni, ma non nella stessa misura dello spessore del tumore<sup>118,120,124,136,137</sup>.

Tuttavia, la presenza di ulcerazione pare essere fortemente associata alla disseminazione metastatica per via ematogena<sup>135</sup>, così come lo stato del linfonodo sentinella è stato visto essere un forte fattore predittivo di ripresa di malattia<sup>67,138</sup> e di sopravvivenza<sup>120,124,121,134</sup>.

Diversamente, Topar e colleghi, in uno studio prospettico, hanno dimostrato che la percentuale dell'associazione tra progressione di malattia e decesso non è stata significativamente più alta nei pazienti con SLN positivo rispetto a quelli con SLN negativo; pertanto hanno concluso che lo stato del linfonodo sentinella non è un fattore prognostico affidabile di progressione di malattia<sup>118</sup>.

Nel complesso l'analisi di sopravvivenza del nostro studio indica una prognosi migliore nei pazienti con SLN negativo. Tuttavia, è stato visto come 8 pazienti su 10 con SLN negativo siano morti dopo 5 anni, per cui per determinare il vero valore prognostico di SLNB potrebbe essere necessario un follow-up più lungo. In aggiunta, le analisi di regressione di Cox, con tutti gli aggiustamenti, mostrano che le metastasi al linfonodo sentinella non sono significativamente associate né alla recidiva né ad MMS (Tabella IX).

I risultati di questo studio supportano il ruolo dello spessore di Breslow (> 2 mm) come fattore predittivo di recidiva e MSM (Tabella IX). Questi risultati suggeriscono che lo spessore di Breslow influenza maggiormente l'outcome a lungo termine, rispetto alle metastasi al linfonodo sentinella, probabilmente soprattutto in pazienti con tumore SLN negativo. Infatti, Zogakis e colleghi, in base all'ipotesi che il SLN negativo non precluda la recidiva di melanoma, hanno dimostrato che lo spessore del tumore in questo sottogruppo di paziente è il più importante fattore prognostico per MSS e DFS<sup>136</sup>. Infine, nel nostro studio, il sesso maschile aumenta in modo significativo il rischio di recidiva in pazienti con melanoma.

Basandoci sui risultati del nostro studio, i pazienti con tumore Breslow>2mm, a prescindere dallo stato del LNS, dovrebbero essere considerati ad alto rischio di recidiva e mortalità, quindi dovrebbero essere sottoposti a follow-up stretto e considerati per la terapia adiuvante con IFN-alfa.

Nel nostro studio, questi pazienti non sono hanno ricevuto terapia adiuvante, e questo può spiegare che la DFS dei pazienti AJCC IIB e IIC, e MSS dei pazienti AJCC IIC, siano sovrapponibili a quelle dei pazienti con metastasi linfonodali (AJCC III).

In conclusione questo studio ha confermato la validità della WLE/SLNB per una miglior stadiazione tumorale e per identificare quali pazienti avranno una prognosi peggiore dopo 10 anni di follow-up, dovuto ad una positività del linfonodo sentinella.

Tuttavia, la metastasi al SLN di per sè non è un fattore predittivo di recidiva e mortalità, e questa circostanza potrebbe essere influenzata da altri fattori che influenzano la positività del linfonodo sentinella ed aumentano il rischio di recidiva e MMS.

Infatti:

- I. l'aumento dello spessore di Breslow della lesione primaria è associato, indipendentemente, alle metastasi del linfonodo sentinella;
- II. lo spessore di Breslow > 2 mm è un fattore predittivo indipendente di recidiva;
- III. il sesso maschile e lo spessore di Breslow > 2 mm sono fattori predittivi indipendenti di mortalità melanoma specifica.

Le caratteristiche di base del tumore primario (Breslow>2mm) e del paziente (sesso maschile), piuttosto che le metastasi linfonodali, hanno il maggior impatto sulla recidiva e mortalità a 10 anni.

I Pazienti con tumore SLN negativo e spessore di Breslow>2mm devono essere considerati pazienti ad alto rischio di recidiva e mortalità, e possono essere proposti per terapia adiuvante. Uno studio prospettico con un campione più ampio di pazienti SLN negativi, che presentino recidiva, sarebbe utile per affinare l'analisi dei fattori di rischio in questo gruppo di pazienti. Inoltre, uno studio prospettico randomizzato che prenda in considerazione la terapia adiuvante sarebbe utile per determinarne l'impatto su DFS e OS nella categoria di pazienti ad alto rischio sopra descritti.

# **6 BIBLIOGRAFIA**

---

<sup>1</sup> Jemal A, Saraiya M, Patel P, et al. Recent trends in cutaneous melanoma incidence and death rates in the United States, 1992-2006. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:S17-25 e 11-13

<sup>2</sup> AIOM e AIRTum, I numeri del cancro in Italia 2014, 4 ed., ottobre 2014

<sup>3</sup> AIRT Working Group I tumori in Italia – rapporto 2006 “Incidenza, mortalità e stime” in *Epidemiologia & Prevenzione, Associazione italiana di epidemiologia*, gennaio-febbraio 2006; supplemento 2: 17-28, 52-53, 120-121

<sup>4</sup> Elwood, J. M., Gallagher, R. P., Hill, G. B., et al., Pigmentation and skin reaction to sun as risk factors for cutaneous melanoma: Western Canada Melanoma Study, 1994; 288: 99-102.

<sup>5</sup> Bliss J.M., Ford D., Swerdlow A.J., et al. Risk of cutaneous melanoma associated with pigmentation characteristics and freckling: systematic overview of 10 case-control studies. *Int. J. Cancer*, 1995;62:367-376

<sup>6</sup> Wolff K., et al. Manuale ed Atlante di Dermatologia clinica, *PICCIN 7<sup>a</sup>Ed.*, 2012

<sup>7</sup> Mariuzzi GM, Anatomia Patologica e correlazioni anatomico-cliniche Vol, 2, *Piccin*, 2007

<sup>8</sup> Gandini, S., Sera, F., Cattaruzza, M. S., et al., Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *European Journal of Cancer*, 2005;41: 28-44.

<sup>9</sup> Gallagher RP, McLean DI. The epidemiology of acquired melanocytic nevi. A brief review. *Dermatol Clin* 1995;13:595–603.

<sup>10</sup> Whiteman DC, Watt P, Purdie DM, et al. Melanocytic nevi, solar keratoses, and divergent pathways to cutaneous melanoma. *J Natl Cancer Inst*, 2003;95:806–812.

<sup>11</sup> AIOM, Linee guida edizione 2013

<sup>12</sup> IARC. Solar and ultraviolet radiation. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Vol. 55. IARC, Lyon,1992;73-95, 217-28*

<sup>13</sup> Holly EA., Aston DA., Cress RD., et al. Cutaneous melanoma in women, I: exposure to sunlight, ability to tan, and other risk factors related to ultraviolet light, *Am J Epidemiol.* 1995; 141:923-933

<sup>14</sup> Lew RA, Sober AJ, Cook N, et al., Sun exposure habits in patients with cutaneous melanoma: a case control study, *J Dermatol Surg Oncol.*, 1983; 9:981-986

<sup>15</sup> Osterlind A, Tycker MA, Stone BJ, et al., The Danish case-control study of cutaneous malignant melanoma, II: importance of UV-light exposure, *Int J Cancer*, 1988;42:319-324

- 
- <sup>16</sup> Westerdahl J, Olsson H, Ingvar C., At what age do sunburn episodes play a crucial role for the development of malignant melanoma, *Eur J Cancer*, 1994;30:1647-1654
- <sup>17</sup> Whiteman D, Green, A Melanoma and sunburn, *Cancer Causes Control*, 1994;5:564-572
- <sup>18</sup> Elwood JM, Jopson J, Melanoma and sun exposure: an overview of published studies, *Int J Cancer*, 1997;73:198-203
- <sup>19</sup> Gloster HM Jr, Brodland DG, The epidemiology of skin cancer, *Dermatol Surg*, 1996;22:217-226
- <sup>20</sup> Autier P, Dore JF, Lejeune F, et al., EORTC Malignant Melanoma Cooperative Group. Recreational exposure to sunlight and lack of information as risk factors for cutaneous malignant melanoma: results of an European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) case-control study in Belgium, France and Germany, *Melanoma Res.*, 1994;4:79-85
- <sup>21</sup> Walter SD, Marrett LD, From L, et al., The association of cutaneous malignant melanoma with the use of sunbeds and sunlamps, *Am J Epidemiol.*,1990;131:232-243
- <sup>22</sup> Drobetsky EA, Turcotte J, Chateaneuf A, A role for ultraviolet A in solar mutagenesis, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995;92:2350-2354
- <sup>23</sup> IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: solar and ultraviolet radiation, *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 1992;55:1-316
- <sup>24</sup> Westerdahl J, Olsson H, Masback A, et al., Use of sunbeds or sunlamps and malignant melanoma in southern Sweden, *Am J Epidemiol*, 1994;140:691-699
- <sup>25</sup> Cripps DJ, Hegedus S., Protection factor of sunscreens to monochromatic radiation, *Arch. Dermatol.*, 1974;109:202-204
- <sup>26</sup> Pathak MA, Sunscreens: topical and systemic approaches for protection of human skin against harmful effect of solar radiation, *J Am Acad Dermatol*, 1982;7:285-312
- <sup>27</sup> Kligman LH, Akin FJ, Kligman AM, The contributions of UVA and UVB to connective tissue damage in hairless mice, *J Invest Dermatol*, 1985;84:272-276
- <sup>28</sup> Kligman LH, Akin FJ, Kligman AM, Prevention of ultraviolet damage to dermis of hairless mice by sunscreens, *J Invest Dermatol*, 1982;78:181-189
- <sup>29</sup> Synder DS, May M., Ability of PABA to protect mammalian skin from ultraviolet light-induced skin tumors and actinic damage, *J Invest Dermatol*, 1975;65:543-546
- <sup>30</sup> MacLennan R, Green AC, McLeod GR, et al., Increasing incidence of cutaneous melanoma in Queensland, Australia, *J Natl Cancer Inst.*, 1992;84:1427-1432

- 
- <sup>31</sup> Balch CM, Soong SJ, Milton GW, et al., Changing trends in cutaneous melanoma over a quarter century in Alabama, USA, and New South Wales, Australia, *Cancer*, 1983;52:1748-1753
- <sup>32</sup> Westerdahl J, Olsson H, Masback A, et al., Is the use of sunscreens a risk factor for malignant melanoma?, *Melanoma Res.*, 1995;5:59-65
- <sup>33</sup> Garland CF, Gorham ED, Rising trends in melanoma: an hypothesis concerning sunscreen effectiveness, *Ann Epidemiol*, 1993;3:103-110
- <sup>34</sup> Stokes R, Diffey B, How well are sunscreen users protected?, *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 1997;13:186-188
- <sup>35</sup> Wolf P, Donawho CK, Kripke ML., Effect of sunscreens on UV radiation-induced enhancement of melanoma growth in mice, *J Natl Cancer Inst.*, 1994;86:99-105
- <sup>36</sup> Dermnet NZ., Clinical Topics A-Z., Dermatological Society of New Zealand, 2010. Available from: [www.dermnet.org.nz](http://www.dermnet.org.nz) (Accessed Jan, 2011)
- <sup>37</sup> Friedman R.J., Riegel D.S. Kopf A. W. Early detection of malignant melanoma: the role of physician examination and self-examination of the skin, *Cancer*, 35: 130-151, 1985
- <sup>38</sup> Mackie R.M., Freudenberger T., Aitchison T.C. Personal risk-factor chart for cutaneous melanoma. *Lancet*, 2: 487-490, 1989
- <sup>39</sup> Duff CG, Melsom D, Rigby HS, et al., A 6 year prospective analysis of the diagnosis of malignant melanoma in pigmented-lesion clinic: even the experts miss malignant melanoma, but not often, *Br J Plas Surg* 2001;54:317-321
- <sup>40</sup> Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Cutaneous Melanoma. SIGN, 2003. Available from: [www.sign.ac.uk](http://www.sign.ac.uk)
- <sup>41</sup> MacKie R. Clinical recognition of early invasive malignant melanoma, *BMJ* 1990;301:1005-6.
- <sup>42</sup> Mackie R.M. Clinical recognition of early invasive malignant melanoma, *BMJ*; Nov 1990;301:1005
- <sup>43</sup> NIH. Consensus conference: diagnosis and treatment of early melanoma. *JAMA*, 1992;9:268:1314
- <sup>44</sup> Clinical Knowledge Summaries. Skin cancer – suspected. Available from: [www.cks.nhs.uk/skin\\_cancer\\_suspected](http://www.cks.nhs.uk/skin_cancer_suspected)

- 
- <sup>45</sup> Bafounta ML, Beauchet A, Aegerter P, et al., Is dermoscopy (epiluminescence microscopy) useful for the diagnosis of melanoma? Results of a meta-analysis using techniques adapted to the evaluation of the diagnostic tests, *Arch Dermatol* 2001;137:1343-1350
- <sup>46</sup> Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, et al., Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting, *Br J Dermatol*, 2008 Sep;159:669-76
- <sup>47</sup> Soyer H.P., Smolle J., Rieger E., et al., Diagnostic reliability of dermoscopic criteria for detecting malignant melanoma, *Dermatology*, 1995;190:2530
- <sup>48</sup> Carli P., De Giorgi V., Dosi G., et al., Reliability and inter-observer agreement of dermoscopic diagnosis of melanoma and melanocytic naevi, *Eur. J. Cancer Prev.*, 1998;7: 397-402
- <sup>49</sup> Binder M., Schwarz M., Winkler A., et al. Epiluminescence microscopy. A useful tool for the diagnosis of pigmented skin lesions for formally trained dermatologists. *Arch Dermatol.*,1995; 131: 286-291
- <sup>50</sup> Kopf A., Elbaum M., Provost N. The use of dermoscopy and digital imaging in the diagnosis of cutaneous malignant melanoma. *Skin Res. Technol.*,1997;3:1-7
- <sup>51</sup> Menzies S.W., Ingvar C., McCarthy W.H. A sensitivity and specificity analysis of the surface microscopy features of invasive melanoma. *Melanoma Res.*,1996;6: 55-62
- <sup>52</sup> Bahmer F.A., Fritsch P., Kreush J., et al. Terminology in surface microscopy. Consensus meeting of the Committee on analytical morphology of the Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung, Hamburg 1989. *J. Am. Acad. Dermatol.*,1990;23:1159-1162
- <sup>53</sup> Calonje E. ACP best practice n° 162. The histological reporting of melanoma. Associations Clinical Pathologists, *J Clin Pathol*,2000;53:587-590.
- <sup>54</sup> Lees VC, Briggs JC, Effect of initial biopsy procedure on prognosis in stage I invasive cutaneous malignant melanoma: review of 1086 patients, *Br J Surg*, 1991;78:1108-1110
- <sup>55</sup> Bong JL, Herd RM, Hunter JA, Incisional biopsy and melanoma prognosis, *J Am Acad Dermatol*, 2002;46:690-694
- <sup>56</sup> Bichakjian, C. K., Halpern, A. C., Johnson, T., et al., Guidelines of care for the management of primary cutaneous melanoma, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2011;65:1032-1047.
- <sup>57</sup> Sober AJ, Chuang TY, Duvic M, et al., Guidelines of care for primary cutaneous melanoma, *J Am Acad Dermatol*,2001;45:579-586



---

<sup>58</sup> Agenzia Nazionale per i Servizi Sanitari Regionali (age.na.s), Linee guida nazionali di riferimento, Luglio 2012

<sup>59</sup> Clark W.H. Jr: A classification of malignant melanoma in man correlated with histogenesis and biologic behaviour. In advanced of the biology of the skin; *vol. VIII New York: Pergamon Press*, 1967: 621-47

<sup>60</sup> Gimotty, P. A., Elder, D. E., Fraker, et al., Identification of high-risk patients among those diagnosed with thin cutaneous melanomas, *Journal of Clinical Oncology*, 2007;25:1129-1134.

<sup>61</sup> Büttner, P., Garbe, C., Bertz, et al., Primary cutaneous melanoma. Optimized cutoff points of tumor thickness and importance of Clark's level for prognostic classification, *Cancer*, 1995; 75:2499-2506.

<sup>62</sup> Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009; 27:6199-206

<sup>63</sup>Barnhill, R. L., Katzen, J., Spatz, A., et al., The importance of mitotic rate as a prognostic factor for localized cutaneous melanoma, *Journal of cutaneous pathology*, 2005;32:268-273.

<sup>64</sup> Azzola, M. F., Shaw, H. M., Thompson, J. F., et al., Tumor mitotic rate is a more powerful prognostic indicator than ulceration in patients with primary cutaneous melanoma, *Cancer*, 2003;97:1488-1498.

<sup>65</sup> Francken, A. B., Shaw, H. M., Thompson, J. F., et al., The prognostic importance of tumor mitotic rate confirmed in 1317 patients with primary cutaneous melanoma and long follow-up, *Annals of surgical oncology*, 2004;11:426-433.

<sup>66</sup> Thompson, J. F., Soong, S. J., Balch, C. M, et al., Prognostic significance of mitotic rate in localized primary cutaneous melanoma: an analysis of patients in the multi-institutional American Joint Committee on Cancer melanoma staging database, *Journal of Clinical Oncology*, 2011;29(16):2199-2205.

<sup>67</sup>Balch, C. M., Soong, S. J., Gershenwald, J. E., et al., Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *Journal of Clinical Oncology*, 2001;19:3622-3634.

<sup>68</sup>Balch, C. M., Gershenwald, J. E., Soong, S. J., et al., Multivariate analysis of prognostic factors among 2,313 patients with stage III melanoma: comparison of nodal micrometastases versus macrometastases. *Journal of Clinical Oncology*, 2010;28:2452-2459.

<sup>69</sup> Balch CM, Cascinelli, Sentinel-node biopsy in melanoma, *N Engl J Med*, 2006;355:1370-1371,

<sup>70</sup> Rousseau DL Jr, Ross MI, Johnson MM, et al: Revised American Joint Committee on Cancer staging criteria accurately predict sentinel lymph node positivity in clinically node-negative melanoma patients. *Ann Surg Oncol*, 2003;10:569-574

- 
- <sup>71</sup> Cascinelli, N., Belli, F., Santinami, M., et al., Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the WHO Melanoma Program experience, *Annals of Surgical Oncology*, 200;7:469-474.
- <sup>72</sup> Clemente C.G., Mihm M.C. Jr, Bufalino R., et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer*, 1996;77: 1303-1310
- <sup>73</sup> Edge SE, Byrd DR, Carlucci MA, et al., AJCC cancer staging manual. *New York: Springer*, 2009
- <sup>74</sup> Pawlik, T. M., Ross, M. I., Johnson, M. M., et al., Predictors and natural history of in-transit melanoma after sentinel lymphadenectomy. *Annals of surgical oncology*, 2005;12: 587-596.
- <sup>75</sup> Wong JH, Cagle LA, Kopald KH, et al., Natural history and selective management of in transit melanoma, *J Surg Oncol* 1990;44:146 – 50
- <sup>76</sup> Consiglio Nazionale delle Ricerche, Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca, Basi scientifiche per linee guida: il melanoma cutaneo, Gen 2000
- <sup>77</sup> Baldwin, B. T., Cherpelis, B. S., Sondak, V., et al. Sentinel lymph node biopsy in melanoma: Facts and controversies, *Clinics in dermatology*, 2010, 28(3), 319-323
- <sup>78</sup> Reintgen D., Cruse C.W., Wells K., et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases, *Ann. Surg.*, 220: 759-767, 1994
- <sup>79</sup> Morton DL, Hoon DS, Cochran AJ, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: therapeutic utility and implications of nodal microanatomy and molecular staging for improving the accuracy of detection of nodal micrometastases. *Ann Surg*. 2003; 238:538–49
- <sup>80</sup> Holmes EC, Moseley HS, Morton DL, et al., A rational approach to the surgical management of melanoma, *Ann Surg.*, 1977; 186:481–90
- <sup>81</sup> Morton, D. L., Overview and update of the phase III Multicenter Selective Lymphadenectomy Trials (MSLT-I and MSLT-II) in melanoma, *Clinical & experimental metastasis*, 2012;29:699-706
- <sup>82</sup> Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma, *Arch Surg* 1992; 127:392-9
- <sup>83</sup> Belli F., Lenisa L., Clemente C., et al. Sentinel node biopsy and selective dissection for melanoma nodal metastases, *Tumori*, 1998;84: 24-28
- <sup>84</sup> NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology Melanoma Version 3.2016, NCCN.org

---

<sup>85</sup> Veronesi U., Testori A, Bossi M. C., et al. Il melanoma Diagnosi e trattamento specialistico, *Masson*, 2000

<sup>86</sup> Papachristou D., Fortner J.G. Comparison of lymphedema following in-contiguity and discontinuity groin dissection, *Ann. Surg.*, 1977;185:13, 1977

<sup>87</sup> Cohn-Cedermark, G., Rutqvist, L. E., Andersson, R., et al., Long term results of a randomized study by the Swedish Melanoma Study Group on 2-cm versus 5-cm resection margins for patients with cutaneous melanoma with a tumor thickness of 0.8–2.0 mm. *Cancer*, 2000;89:1495-1501.

<sup>88</sup> Khayat, D., Rixe, O., Martin, G., et al., Surgical margins in cutaneous melanoma (2 cm versus 5 cm for lesions measuring less than 2.1-mm thick), *Cancer*, 2003;97:1941-1946.

<sup>89</sup> Gillgren, P., Drzewiecki, K. T., Niin, M, et al., 2-cm versus 4-cm surgical excision margins for primary cutaneous melanoma thicker than 2 mm: a randomised, multicentre trial. *The Lancet*, 2011;378:1635-1642.

<sup>90</sup> Balch, C. M., Soong, S. J., Smith, T., et al., Long-term results of a prospective surgical trial comparing 2 cm vs. 4 cm excision margins for 740 patients with 1–4 mm melanomas. *Annals of Surgical Oncology*, 2001;8:101-108.

<sup>91</sup> Balch, C. M., Urist, M. M., Karakousis, C. P., et al., Efficacy of 2-cm surgical margins for intermediate-thickness melanomas (1 to 4 mm). Results of a multi-institutional randomized surgical trial, *Annals of surgery*, 1993;218:262.

<sup>92</sup> Thomas, J. M., Newton-Bishop, J., A'Hern, R., et al., Excision margins in high-risk malignant melanoma. *New England Journal of Medicine*, 2004;350:757-766.

<sup>93</sup> Johnson TM, Sondak VK, Bichakjian CK, et al., The role of sentinel lymph node biopsy for melanoma: evidence assessment, *J Am Acad Dermatol*, 2006;54:19-27

<sup>94</sup> Andtbacka, R. H., & Gershenwald, J. E., Role of sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma, *Journal of the National, Comprehensive Cancer Network*, 2009;7:308-317.

<sup>95</sup> Morton, D. L., Thompson, J. F., Essner, R., et al., Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial, *Annals of surgery*, 1999; 230:453.

<sup>96</sup> Edwards MJ, Martin KD, McMasters KM, et al., Lymphatic mapping and sentinel Lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group, *Ann Surg* 1999;230:453-463

<sup>97</sup> Glass FL, Cottam JA, Reintgen DS, Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the management of high-risk melanoma, *J Am Acad Dermatol* 1998;39:603-310

- 
- <sup>98</sup> Wong, S. L., Balch, C. M., Hurley, P., et al., Sentinel lymph node biopsy for melanoma: American Society of Clinical Oncology and Society of Surgical Oncology joint clinical practice guideline, *Journal of Clinical Oncology*, 2012;30:2912-2918.
- <sup>99</sup> Mariani G, Manca G, Feggi L, et al., Raccomandazioni procedurali per la chirurgia radioguidata, *AIMN*, Feb 2012
- <sup>100</sup> Gershenwald JE, Colome MI, Lee JE, et al. Patterns of recurrence following a negative sentinel lymph node biopsy in 243 patients with stage I or II melanoma, *J Clin Oncol.*,1998;16:2253–2260.
- <sup>101</sup> Cascinelli N, Morabito A, santinami M et al. Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomized trial. WHO melanoma Programme. *Lancet* 1998;351:793-796
- <sup>102</sup> Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF. Sentinel node biopsy in melanoma, *N Engl J Med.* 2007; 356:419–20
- <sup>103</sup> Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF. Authors' response to a letter to the editor re: Sentinel node biopsy for early-stage melanoma, *Ann Surg.*, 2007; 245:828–9
- <sup>104</sup> Coit, D. G., & Brennan, M. F, Extent of lymph node dissection in melanoma of the trunk or lower extremity, *Archives of Surgery*, 1989;124,162-166.
- <sup>105</sup> Shen, P., Conforti, A. M., Essner, R,et al., Is the node of Cloquet the sentinel node for the iliac/obturator node group?. *Cancer journal* (Sudbury, Mass.), 1999;6,93-97.
- <sup>106</sup> Coit DG, Extent of groin dissection for melanoma, *Surg Oncol Clin N Am*, 1992;1:271-280
- <sup>107</sup> Brand, C. U., Ellwanger, U., Stroebel, W., et al., Prolonged survival of 2 years or longer for patients with disseminated melanoma, *Cancer*,1997;79:2345-2353.
- <sup>108</sup> Manola J, Atkins M, Ibrahim J, et al., Prognostic factors in metastatic melanoma: a pooled analysis of Eastern Cooperative Oncology Group Trials, *J Clin Oncol*,2000;18:3782-3793
- <sup>109</sup> Ollila DW, Complete metastasectomy in patients with stage IV metastatic melanoma, *Lancet Oncol* 2006;7:919-924
- <sup>110</sup> Yao, K. A., Hsueh, E. C., Essner, R., et al., Is sentinel lymph node mapping indicated for isolated local and in-transit recurrent melanoma?, *Annals of surgery*, 2003;238:743.
- <sup>111</sup> Lindner, P., Doubrovsky, A., Kam, P. C., et al., Prognostic factors after isolated limb infusion with cytotoxic agents for melanoma, *Annals of surgical oncology*, 2002;9:127-136

---

<sup>112</sup> Lens, M. B., & Dawes, M., Isolated limb perfusion with melphalan in the treatment of malignant melanoma of the extremities: a systematic review of randomised controlled trials, *The lancet oncology*,2003;4:359-364.

<sup>113</sup> Rhodes, A. R., Public education and cancer of the skin, *Cancer*,1995;75:613-635.

<sup>114</sup> National Institute of Health. After treatment of early melanoma, should patients and family members be followed? Why and how? NIH Consensus Statement, 1992;10:1-26

<sup>115</sup> Crowley, N. J., & Seigler, H. F., Late recurrence of malignant melanoma. Analysis of 168 patients, *Annals of surgery*, 1990;212:173.

<sup>116</sup> Erdmann F, Lortet-Tieulent J, Schuz J, et al. International trends in the incidence of malignant melanoma 1953-2008--are recent generations at higher or lower risk? *Int J Cancer* 2013; 132:385-400.

<sup>117</sup> Mozzillo N, Caraco C, Chiofalo MG, et al. Sentinel lymph node biopsy in patients with cutaneous melanoma: outcome after 3-year follow-up, *Eur J Surg Oncol* 2004; 30:440-3.

<sup>118</sup> Topar G, Eisendle K, Zelger B, et al. Sentinel lymph node status in melanoma: a valuable prognostic factor? *Br J Dermatol* 2006; 154:1080-7

<sup>119</sup>Rossi CR, De Salvo GL, Trifiro G, et al. The impact of lymphoscintigraphy technique on the outcome of sentinel node biopsy in 1,313 patients with cutaneous melanoma: an Italian Multicentric Study (SOLISM-IMI). *J Nucl Med* 2006; 47:234-41.

<sup>120</sup> Testori A, De Salvo GL, Montesco MC, et al. Clinical considerations on sentinel node biopsy in melanoma from an Italian multicentric study on 1,313 patients (SOLISM-IMI). *Ann Surg Oncol* 2009; 16(7):2018-27

<sup>121</sup> Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, et al. Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 2006; 355:1307-17

<sup>122</sup> Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, et al. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg* 2005; 242(3):302-11; discussion 311-3.

<sup>123</sup> White RL, Jr., Ayers GD, Stell VH, et al. Factors predictive of the status of sentinel lymph nodes in melanoma patients from a large multicenter database, *Ann Surg Oncol* 2011; 18:3593-600.

<sup>124</sup> Bartlett EK, Karakousis GC. Current staging and prognostic factors in melanoma. *Surg Oncol Clin N Am* 2015; 24:215-27.

<sup>125</sup> Chao C, Martin RC, Ross MI, et al. Correlation between prognostic factors and increasing age in melanoma, *Ann Surg Oncol* 2004; 11:259-64

- 
- <sup>126</sup> Carlson GW. Age and the incidence of sentinel lymph node metastases in melanoma, *Ann Surg Oncol*,2004; 11:236-7.
- <sup>127</sup> Caraco C, Marone U, Botti G, et al. Age as predictor in patients with cutaneous melanoma submitted to sentinel lymph node biopsy, *Eur J Surg Oncol* 2006; 32:970-3
- <sup>128</sup> Sondak VK, Taylor JM, Sabel MS, et al. Mitotic rate and younger age are predictors of sentinel lymph node positivity: lessons learned from the generation of a probabilistic model. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:247-58
- <sup>129</sup> Thompson JF, Shaw HM. Should tumor mitotic rate and patient age, as well as tumor thickness, be used to select melanoma patients for sentinel node biopsy? *Ann Surg Oncol* 2004;11:233-5
- <sup>130</sup> Oliveria SA, Christos PJ, Halpern AC, et al. Evaluation of factors associated with skin self-examination, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8:971-8
- <sup>131</sup> Testori A, Stanganelli I, Della Grazia L, et al. Diagnosis of melanoma in the elderly and surgical implications, *Surg Oncol*, 2004; 13:211-21
- <sup>132</sup> Christos PJ, Oliveria SA, Berwick M, et al. Signs and symptoms of melanoma in older populations, *J Clin Epidemiol* 2000; 53:1044-53
- <sup>133</sup> Valsecchi ME, Silbermins D, de Rosa N, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma: a meta-analysis, *J Clin Oncol* 2011; 29:1479-87
- <sup>134</sup> Van Akkooi AC, de Wilt JH, Verhoef C, et al. High positive sentinel node identification rate by EORTC melanoma group protocol. Prognostic indicators of metastatic patterns after sentinel node biopsy in melanoma. *Eur J Cancer* 2006; 42:372-80
- <sup>135</sup> Balch CM, Sober AJ, Soong SJ, et al. The new melanoma staging system, *Semin Cutan Med Surg* 2003; 22:42-54
- <sup>136</sup> Zogakis TG, Essner R, Wang HJ, et al. Natural history of melanoma in 773 patients with tumor-negative sentinel lymph nodes, *Ann Surg Oncol* 2007; 14:1604-11
- <sup>137</sup> Murali R, Desilva C, Thompson JF, et al. Factors predicting recurrence and survival in sentinel lymph node-positive melanoma patients, *Ann Surg* 2011; 253:1155-64
- <sup>138</sup> Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, et al. Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients, *J Clin Oncol* 1999; 17:976-83

