Allegato 3 : Stadiazione del melanoma

Anno di pubblicazione 2024

STADIAZIONE

Categoria T	*Spessore di Breslow^*	*Ulcerazione*
T1 ≤ 1,0 mm		
T1a	a: <0,8 mm	Assente
T1b	b: <0,8 mm	Presente
	0,8-1,0 mm	Assente/Presente
T2 >1,0-2,0 mm		
T2a	a: >1,0-2,0 mm	Assente
T2b	b: >1,0-2,0 mm	Presente
T3 >2,0-4,0 mm		
T3a	a: >2,0-4.0 mm	Assente
T3b	b: >2,0-4.0 mm	Presente
T4 > 4,0 mm		
T4a	a: > 4,0 mm	Assente
T4b	b: > 4,0 mm	Presente
*Categoria N^^*	*N° di linfonodi regionali coinvolti*	*Metastasi in-transit, satelliti, e/o microsatellitosi ^^^*
N1	1 linfonodo coinvolto oppure metastasi in-transit, satelliti, e/o microsatellitosi in assenza di linfonodi regionali coinvolti	
N1a	a: 1 linfonodo clinicamente occulto (diagnosticato con biopsia del linfonodo sentinella)	a: Assenti
N1b	b: 1 linfonodo dimostrato clinicamente	b: Assenti
N1c	c: Linfonodi regionali non coinvolti	c: Presenti
N2	2-3 linfonodi coinvolti oppure metastasi in-transit, satelliti, e/o microsatellitosi con 1 linfonodo regionale coinvolto	
N2a	a: 2 o 3 linfonodi clinicamente occulti (diagnosticati con biopsia del linfonodo sentinella)	a: Assenti
N2b	b: 2 o 3 linfonodi, di cui almeno 1 dimostrato clinicamente	b: Assenti
N2c	c: 1 linfonodo clinicamente occulto o diagnosticato clinicamente	c: Presenti
N3	4 o più linfonodi coinvolti oppure metastasi in-transit, satelliti, e/o microsatellitosi con 2 o più linfonodi regionali coinvolti oppure qualsiasi numero di pacchetti linfonodali (linfonodi confluenti) con o senza metastasi in transit, satelliti e/o microsatellitosi	
N3a	a: 4 o più linfonodi clinicamente occulti (diagnosticati con biopsia del linfonodo sentinella)	a: Assenti
N3b	b: 4 o più linfonodi, di cui almeno 1 dimostrato clinicamente oppure presenza di pacchetti linfonodali (linfonodi confluenti), in qualsiasi numero	b: Assenti
N3c	c: 2 o più linfonodi clinicamente occulti o diagnosticati clinicamente e/o presenza di pacchetti linfonodali (linfonodi confluenti), in qualsiasi numero	c: Presenti
Sede	*Sede Anatomica*	*LDH*
M1	Evidenza di metastasi a distanza	
M1a	a: Metastasi a distanza alla cute, tessuti molli compreso il muscolo e/o linfonodi non regionali	Non valutato o non specificato
M1a(0)		Non elevato
M1a(1)		Elevato
M1b	b: Metastasi a distanza al polmone con o senza sedi di malattia M1a	Non valutato o non specificato
M1b(0)		Non elevato
M1b(1)		Elevato
M1c	c: Metastasi a distanza a sedi viscerali diverse dal SNC con o senza sedi di malattia M1a oppure M1b	Non valutato o non specificato
M1c(0)		Non elevato
M1c(1)		Elevato
M1d	d: Metastasi a distanza al SNC con o senza sedi di malattia M1a, M1b oppure M1c	Non valutato o non specificato
M1d(0)		Non elevato
M1d(1)		Elevato

Lo stadio clinico del paziente con melanoma (cTNM) (AJCC VIII edizione) è il seguente:

T	N	M	cTNM
Tis	N0	M0	0
T1a	N0	M0	IA
T1b	N0	M0	IB
T2a	N0	M0	IB
T2b	N0	M0	IIA
T3a	N0	M0	IIA
T3b	N0	M0	IIB
T4a	N0	M0	IIB
T4b	N0	M0	IIC
Any T, Tis	≥N1	M0	III
Any T	Any N	M1	IV

Lo stadio patologico del paziente con melanoma (pTNM) (AJCC VIII edizione) è il seguente:

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

Allegato 2: sottotipi molecolari, tabrella e caratteristiche

Sottotipo	**Geni più frequentemente mutati (≥10% dei casi)**	**Geni meno frequentemente mutati (<10% dei casi)**	**Geni con riarrangiamenti genomici**
BRAF mutato	TP53 CDKN2A PTEN ARID2	PPP6C, NF1, MAP2K1, RAC1, IDH1, DDX3X, SNX31, TACC1, CTNNB1, PREX2, PIK3CA, STK19, EZH2, FBXW7, RB1, WT1	CDKN2Adel CCND1ampl PTENdel MITFampl TERTamp
RAS mutato	CDKN2A TP53 ARID2 NF1 PPP6C	DDX3X, RAC1, IDH1, PTEN, MAP2K1, RB1, TACC1, PREX2, CTNNB1, FBXW7, PIK3CA, STK19, WT1	CDKN2Adel PTENdel CCND1ampl TERTampl MITFampl KITampl CDK4ampl
Non BRAF mutato *Non RAS mutato*	NF1 TP53 ARID2 RAC1	KIT, CDKN2A, PTEN, IDH1, MAP2K1, RB1, SNX31, PPP6C, PIK3CA, STK19, EZH2, WT1, PREX2	CDKN2Adel CCND1ampl PTENdel TERTampl CDK4ampl KITampl MITFampl

<u>BRAF</u>

Nel melanoma, il gene BRAF è mutato nel 45-50% dei casi; la mutazione più diffusa (85-90% dei casi) è rappresentata dalla sostituzione di una valina con acido glutammico al codone 600 (V600E). Le rimanenti mutazioni BRAF si verificano spesso allo stesso codone: V600K (la più frequente; <10% dei casi),V600D e V600R; le mutazioni in codoni diversi da V600 non sono comuni (tra questi, K601 è quella più prevalente).
L'attivazione oncogenica costitutiva di BRAF promuove la stimolazione continua e incontrollata della proliferazione cellulare. Esiste una relazione inversa tra la prevalenza della mutazione BRAF e l'età di insorgenza del melanoma: >50% dei pazienti <30 anni e solo il 25% ≥ 70 anni presenta un melanoma con BRAF mutato. Inversamente, mutazioni non-V600E (incluse quelle V600K) sono state trovate in <20% dei pazienti <50 anni e >40% in quelli ≥70 anni. La dimostrazione che il BRAF è mutato nella maggioranza (>50%) dei nevi comuni suggerisce che la sua attivazione oncogenica è una condizione necessaria ma non sufficiente per lo sviluppo del melanoma (che è infatti considerata evento di iniziazione nella trasformazione in senso neoplastico dei melanociti).
La mutazione BRAF-V600 ha oggi un significato prevalentemente predittivo nella gestione del paziente con melanoma, in quanto identifica una potenziale sensibilità al trattamento con la combinazione di BRAF e MEK inibitori (target therapy). Infatti, i pazienti con melanoma avanzato (stadio IV o III inoperabile) con mutazione BRAFV600 possono trarre beneficio dal trattamento con BRAF e MEK inibitori; la presenza di mutazione non sembra influenzare la probabilità di risposta all'immunoterapia, pertanto in questi pazienti può essere presa in considerazione sia la terapia con BRAF e MEK inibitori che l'immunoterapia con checkpoint inhibitors. In assenza di mutazione BRAF-V600 è indicato solo il trattamento immunoterapico.

Per la valutazione dello stato mutazionale nei melanomi si suggerisce di selezionare in prima istanza i tessuti di melanoma metastatico, in quanto essi possono sia rappresentare le lesioni tumorali di più recente sviluppo, sia essere costituiti da una preponderante popolazione cellulare neoplastica. Laddove questo non fosse possibile, è indicato eseguire l'indagine mutazionale sul campione tessutale del melanoma primitivo. Nello stadio III la determinazione può essere eseguita sul primitivo o sulla metastasi linfonodale. In tal senso, è stata dimostrata una buona concordanza nel pattern mutazionale dei geni BRAF tra lesioni metastatiche e tumore primitivo nei pazienti con melanoma in stadio avanzato. In considerazione dell'eterogeneità intertumorale, qualora l'analisi molecolare

fosse stata effettuata sul tessuto primitivo con risultato wild-type, va considerata l'opportunità di ripetere l'analisi mutazionale di BRAF sulle metastasi accessibili.

Generalmente, sono sottoposti ad analisi mutazionale campioni di archivio di tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina, previa sparaffinatura e purificazione del DNA genomico mediante protocolli standard. Fondamentale è l'arricchimento del campione tissutale e la percentuale di cellule neoplastiche presenti nel tessuto da inviare ad analisi molecolare non dovrebbe mai essere inferiore al 50%. In caso di melanoma associato a nevo è cruciale che nella fase di arricchimento del campione sia posta attenzione nell'isolare una popolazione pura di cellule di melanoma, in quanto i nevi melanocitici possono essere portatori di mutazioni nel gene BRAF (alla stessa frequenza riscontrata nei melanomi; vedi sopra).
Lo stato mutazionale di BRAF può essere valutato mediante metodiche con diverso grado di sensibilità e specificità. L'analisi mutazionale si può basare su metodiche di screening a livello proteico (test immunoistochimico) e metodiche di tipo molecolare su DNA genomico quali: il sequenziamento nucleotidico mediante approccio convenzionale basato su metodo Sanger e mediante approccio di next-generation sequencing (NGS; pannelli multigenici che consentono il rilevamento simultaneo di migliaia di varianti nei principali geni candidati), il pirosequenziamento, la Real-Time PCR e la spettrometria di massa (Sequenom).

Raccomandazioni pratiche:
Nei pazienti con melanomi in stadio III o in stadio IV è indicata la determinazione dello stato mutazionale di BRAF ai fini di una corretta pianificazione terapeutica. Si raccomanda l'esecuzione del test per la ricerca delle mutazioni di BRAF sull'ultima sede metastatica (se disponile) altrimenti può essere eseguito anche su lesione primitiva (in particolare questo vale per il melanoma in stadio III).

NRAS

La valutazione dello stato mutazionale del gene NRAS è indicata dopo la verifica dell'assenza di mutazioni a carico del gene BRAF in pazienti con melanoma avanzato (stadio III inoperabile o stadio IV). Le mutazioni del gene NRAS più frequentemente riportate nel melanoma sono quelle a carico del codone 61 (Q61K/L/R/H) e, a minor prevalenza, quelle nel codone 12 (G12C/R/S/A/D/V) e 13 (G13D). Spesso, le mutazioni di NRAS si associano a quelle in altri geni coinvolti nella patogenesi del melanoma (es. CDKN2A, ABCB5, NF1).
Ad oggi, il rilievo della mutazione di NRAS, può essere utile per l'inserimento di pazienti in studi clinici. Nei pazienti con melanoma NRAS mutato è indicato il trattamento con immunoterapia. Non esistono attualmente farmaci a target molecolare approvati per il melanoma con mutazione di NRAS. Recenti studi clinici hanno dimostrato una minima attività terapeutica del MEK inibitore binimetinib nei pazienti con melanoma avanzato e mutazione NRAS.

Raccomandazioni pratiche:
Nei pazienti con melanoma in stadio IV o III non operabile e assenza di mutazioni BRAF può essere indicata la determinazione dello stato mutazionale di NRAS.

c-KIT

La valutazione dello stato mutazionale di c-KIT è indicata dopo la valutazione dello stato mutazionale di BRAF e solo in assenza di mutazione di BRAF.
Mutazioni di c-KIT più frequentemente associate a melanoma:
• L576P nell'esone 11
• K642E nell'esone 13
• V599A nell'esone 12
• D816H nell'esone 17
• D820Y nell'esone 17

Frequenza della mutazione di c-KIT (1-3% dei melanomi totali) nei sottotipi di melanomi:
• 20% melanomi mucosali
• 15% melanomi acrali
• 3% melanomi su cute cronicamente fotoesposta
• quasi totale assenza nei melanomi in aree cutanee non esposte cronicamente

Nei melanomi avanzati con mutazione di c-KIT è indicato il trattamento con immunoterapia. In Italia, imatinib è stato approvato in legge 648 (Determina Aifa del 5 luglio 2017) per i melanomi metastatici inoperabili con c-KIT mutato (esone 11 e 13), non trattabili o in progressione dopo immunoterapia.
La valutazione dello stato mutazionale di c-KIT è indicata nei melanomi acrali e mucosali.
Nel melanoma delle mucose vi è una bassa frequenza di mutazione del gene BRAF o NRAS, mentre può essere più frequente la mutazione del gene c-KIT. Nel caso dei melanomi mucosali si suggerisce tuttavia di procedere dapprima con la determinazione della mutazione BRAF e successivamente, in caso di negatività, con la ricerca della mutazione di c-KIT.

Raccomandazioni pratiche:
Nei pazienti con melanoma acrale o mucosale in stadio IV o III non operabile, e in assenza di mutazioni BRAF, è indicata la determinazione dello stato mutazionale di c-KIT

Melanoma uveale

Dal punto di vista molecolare, il melanoma dell'uvea è distinto da quello cutaneo per la pressoché generale assenza di mutazioni nei geni BRAF, NRAS, c-KIT, e NF1; la determinazione dello stato mutazionale di BRAF va comunque eseguita.
Il melanoma uveale è caratterizzato dalla presenza di mutazioni nei geni GNAQ (frequenza del 28-50%) e GNA11 (frequenza del 32-50%), che codificano due subunità di proteine G (G/q alpha subunits), capaci di attivare il MAPK pathway e sono mutualmente esclusive. Le mutazioni di GNAQ e GNA11 sono considerate eventi precoci nello sviluppo della malattia.
Altri eventi mutazionali sono rappresentati da monosomie del cromosoma 3, amplificazione del cromosoma 8q e, soprattutto, inattivazione del gene BAP1 (frequenza del 18-45%). Le mutazioni somatiche di BAP1 sembrano caratterizzare la fase di progressione di malattia, essendo più frequentemente associate alla formazione di metastasi. Tuttavia, le mutazioni di BAP1 possono essere presenti anche a livello germinale, conferendo una predisposizione a particolari sindromi neoplastiche (aumentato rischio di tumori diversi, incluso il melanoma dell'uvea e di altre sedi). Non sono disponibili farmaci a target molecolare per le mutazioni più frequenti nel melanoma uveale; da segnalare comunque che alcuni studi hanno valutato la potenziale attività di un trattamento con inibitori multichinasici (sunitinib) o MEK inibitori (selumetinib) in questa malattia. Il trattamento medico disponibile per la malattia avanzata è l'immunoterapia; la terapia con Tebentafusp può essere presa in considerazione per i pazienti con HLA-A*02:01.

Raccomandazioni pratiche:
Nei melanomi mucosali e uveali può essere indicato l'esecuzione del test per la ricerca delle mutazioni di BRAF (seppure la frequenza di queste mutazioni sia molto bassa)

Le linee guida SIAPEC-IAP 2022 suggeriscono inoltre di non utilizzare il test 31-GEP (Genetic Expression Profiling; pannello di espressione di 28 geni targets) su tessuto del tumore primitivo a fini prognostici in pazienti con melanoma cutaneo in stadio I-III