Diagnosi istologica e biomarcatori del melanoma

Deborah Saraggi-Davide Zardo
UOC Anatomia e Istologia Patologica AULSS 8 Berica

Diagnosi istologica e biomarcatori del melanoma

- ✓ Modalità di invio del campione
- ✓ Il referto istologico: esame macroscopico e microscopico e i criteri istoprognostici
- ✓ Marker immunoistochimici
- ✓ Biomarcatori molecolari

Il referto istopatologico-invio del campione

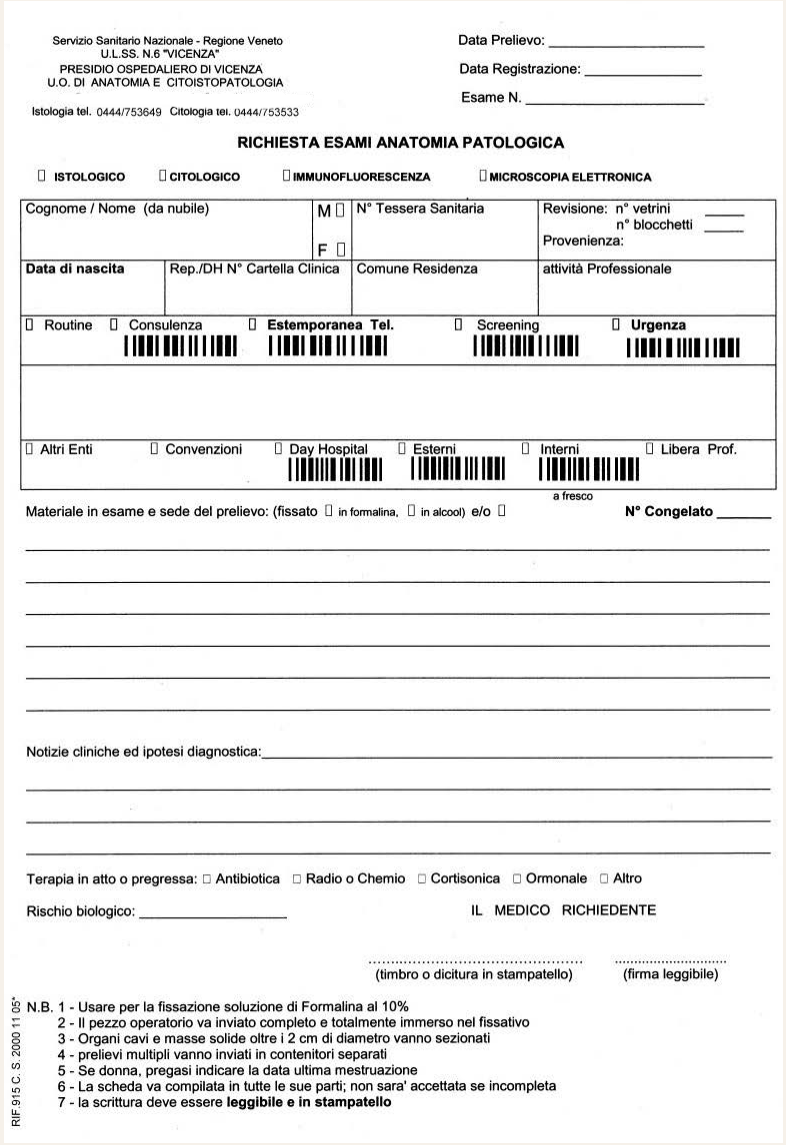
Integro

Campione in fissativo (formalina tamponata al 10%; la quantità idonea è 20 volte il volume del frammento da fissare)

Dati identificativi del paziente

Sede e lateralità della lesione

Dati clinico/dermatoscopici



Servizio Sanitario Nazionale - Regione Veneto
U.L.SS. N.6 "VICENZA"
PRESIDIO OSPEDALIERO DI VICENZA
U.O. DI ANATOMIA E CITOISTOPATOLOGIA
Istologia tel. 0444/753649 Citologia tel. 0444/753533

Data Prelievo: _____
Data Registrazione: _____
Esame N. _____

RICHIESTA ESAMI ANATOMIA PATOLOGICA

☐ ISTOLOGICO ☐ CITOLOGICO ☐ IMMUNOFLUORESCENZA ☐ MICROSCOPIA ELETTRONICA

Cognome / Nome (da nubile)	M ☐ F ☐	N° Tessera Sanitaria	Revisione: n° vetrini ____ n° blocchetti ____ Provenienza:
Data di nascita	Rep./DH N° Cartella Clinica	Comune Residenza	attività Professionale

☐ Routine ☐ Consulenza ☐ **Estemporanea Tel.** ☐ Screening ☐ **Urgenza**

☐ Altri Enti ☐ Convenzioni ☐ Day Hospital ☐ Esterni ☐ Interni ☐ Libera Prof.

a fresco

Materiale in esame e sede del prelievo: (fissato ☐ in formalina, ☐ in alcool) e/o ☐ **N° Congelato** _____

Notizie cliniche ed ipotesi diagnostica: _____

Terapia in atto o pregressa: ☐ Antibiotica ☐ Radio o Chemio ☐ Cortisonica ☐ Ormonale ☐ Altro

Rischio biologico: _____ IL MEDICO RICHIEDENTE

..... (timbro o dicitura in stampatello) ..... (firma leggibile)

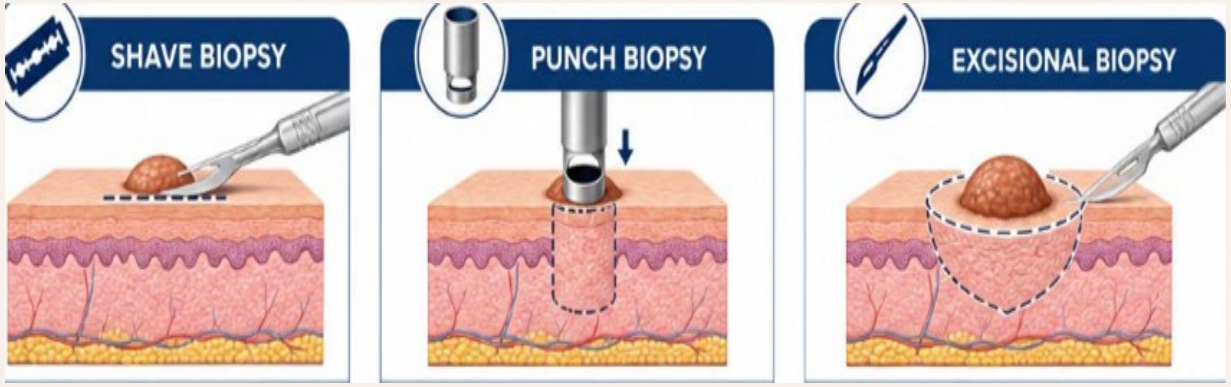
RIF 915 C. S. 2000 11 05*

N.B. 1 - Usare per la fissazione soluzione di Formalina al 10%
2 - Il pezzo operatorio va inviato completo e totalmente immerso nel fissativo
3 - Organi cavi e masse solide oltre i 2 cm di diametro vanno sezionati
4 - prelievi multipli vanno inviati in contenitori separati
5 - Se donna, pregasi indicare la data ultima mestruazione
6 - La scheda va compilata in tutte le sue parti; non sara' accettata se incompleta
7 - la scrittura deve essere **leggibile e in stampatello**

Il referto istopatologico-esame macroscopico

Tipo di prelievo

Biopsia escissionale, incisionale, shave o punch biopsy



Dimensioni della losanga e della lesione

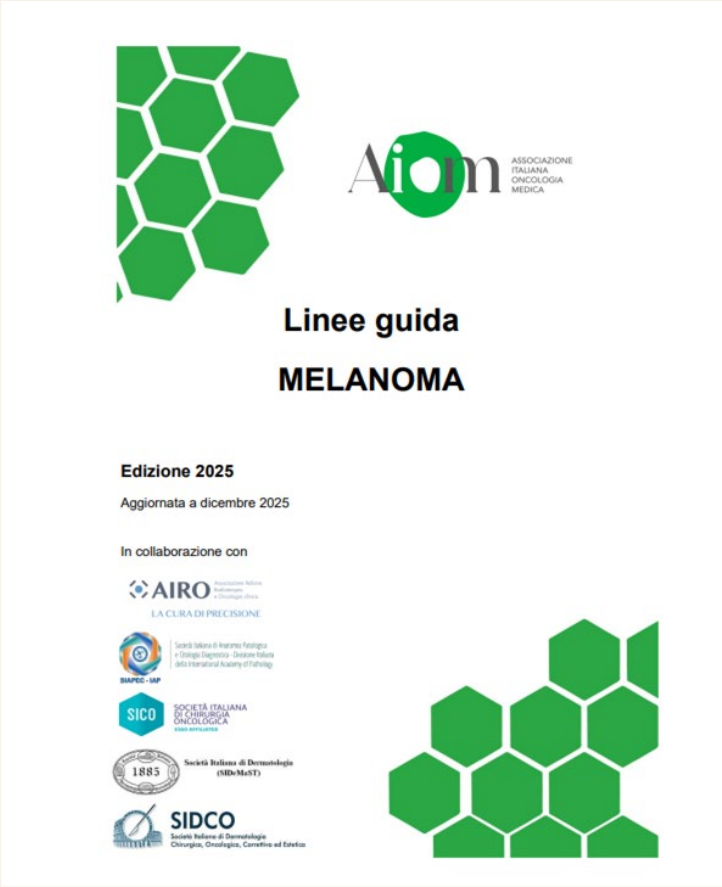
Caratteristiche cliniche della lesione

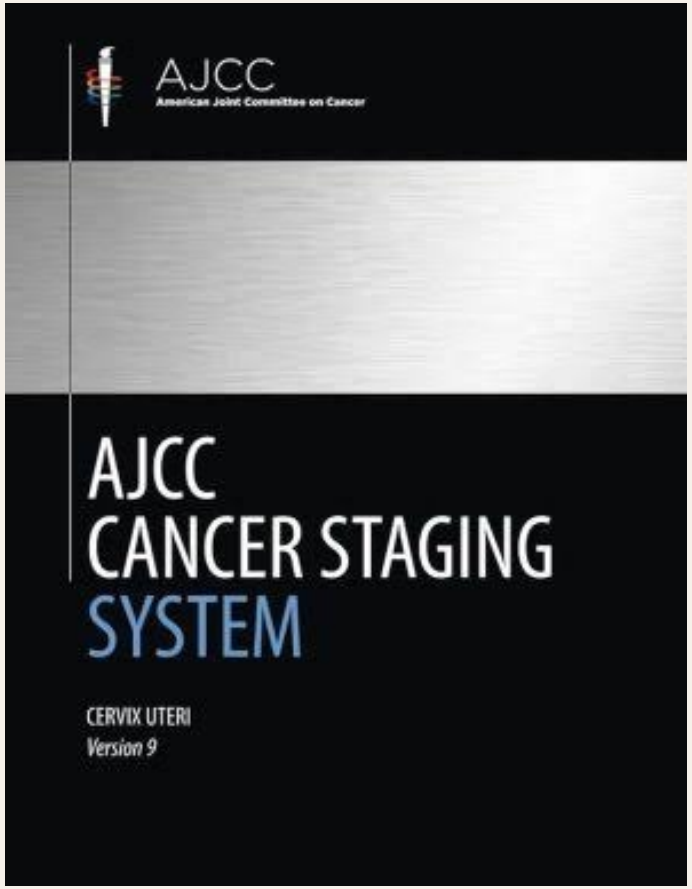
Distanza dai margini di exeresi



Il referto istopatologico

1. Istotipo
2. Fase di crescita
3. Spessore secondo Breslow
4. Ulcerazione
5. Microsatellitosi
6. Numero mitosi/mm2
7. Livello di Clark
8. Linfociti infiltranti il tumore (TILs)
9. Regressione
10. Invasione linfovascolare
11. Neurotropismo
12. Componente nevica associata
13. Elastosi solare dermica
14. Stato dei margini laterale e profondo
15. Stadiazione pTNM





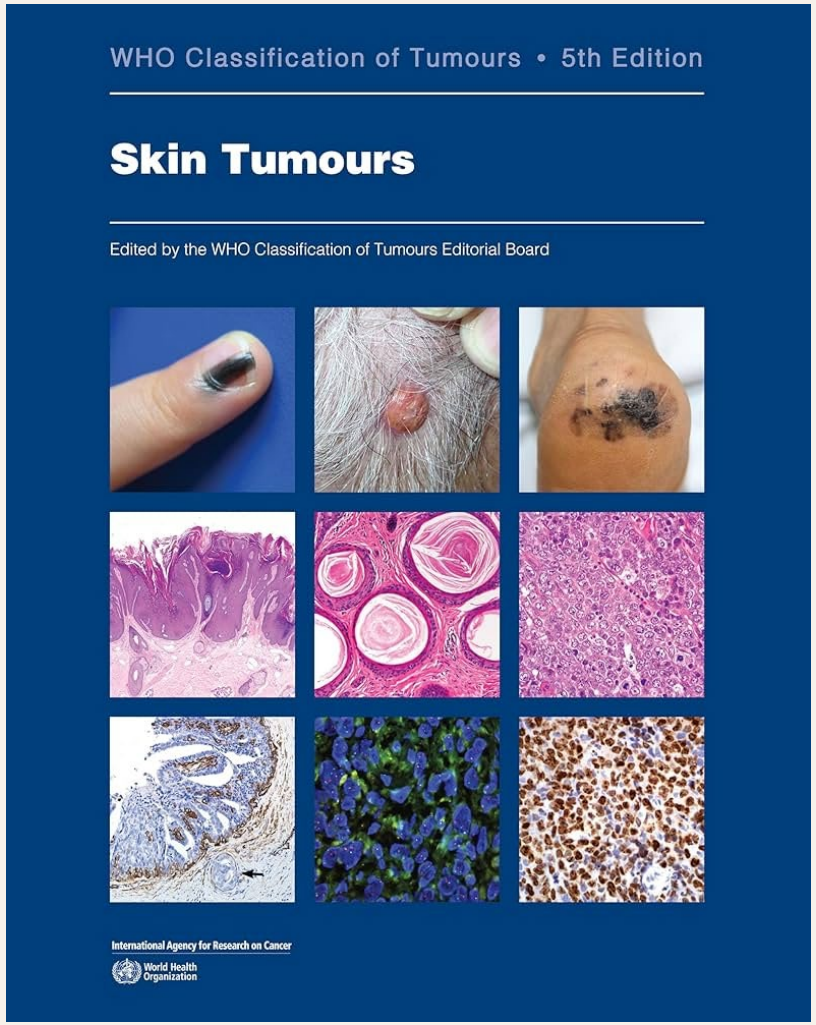
Istotipo

Table 1. Classification of Melanoma (Modified From 2018 WHO Classification)

A. Melanomas typically associated with CSD
Pathway I. Superficial spreading melanoma/low-CSD melanoma
Pathway II. Lentigo maligna melanoma/high-CSD melanoma
Pathway III. Desmoplastic melanoma
B. Melanomas not consistently associated with cumulative solar damage (no CSD)
Pathway IV. Spitz melanomas
Pathway V. Acral melanoma
Pathway VI. Mucosal melanomas
Pathway VII. Melanomas arising in congenital nevi
Pathway VIII. Melanomas arising in blue nevi
Pathway IX. Uveal melanoma (not considered further in this review)
C. Nodular melanoma (may occur in any or most of the pathways)

Abbreviation: CSD, cumulative solar damage.

Reprinted from Bastian et al[37] with permission. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Elder DE, Massi D, Scolyer RA, Willemze R, eds. *WHO Classification of Skin Tumours*. 4th ed. Lyon, France: IARC; 2018.



Istotipi principali di melanoma

Melanoma a diffusione superficiale-low CSD melanoma

Il più frequente (~70%); fase di crescita radiale prima della fase di crescita verticale.

Melanoma nodulare

Crescita verticale precoce, prognosi spesso peggiore per la diagnosi tardiva.

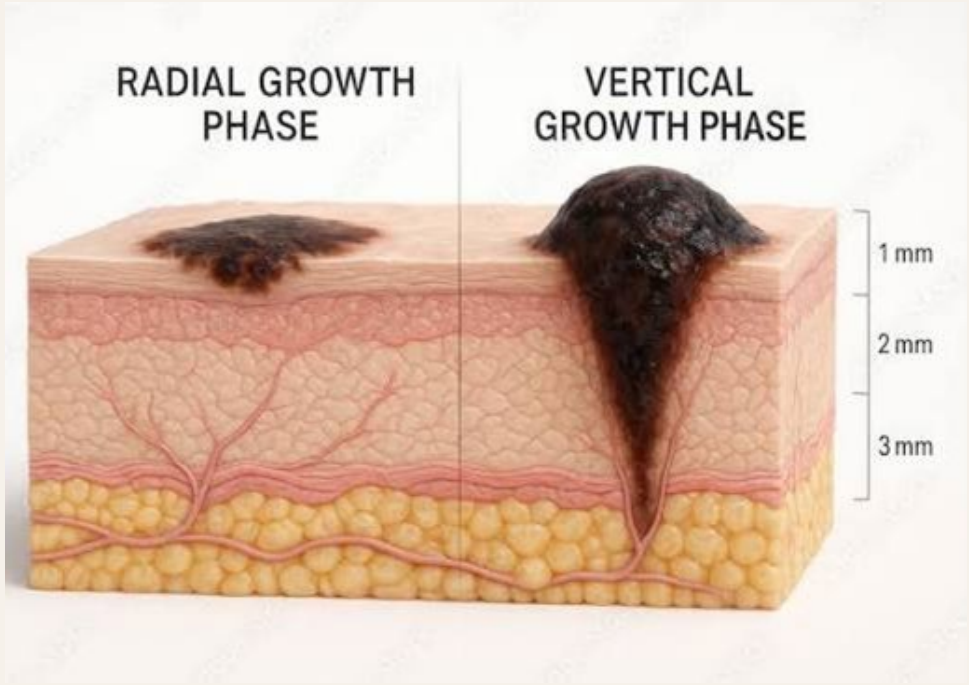
Lentigo maligna-high CSD melanoma

Tipico delle aree fotoesposte in soggetti anziani; decorso lento prima dell'invasione.

Melanoma acrale

Palmi mani e pianta piedi e della regione subungueale; non correlato all'esposizione solare.

Fase di crescita



Fase di crescita radiale

Diffusione orizzontale dei melanociti atipici lungo la giunzione dermo-epidermica.

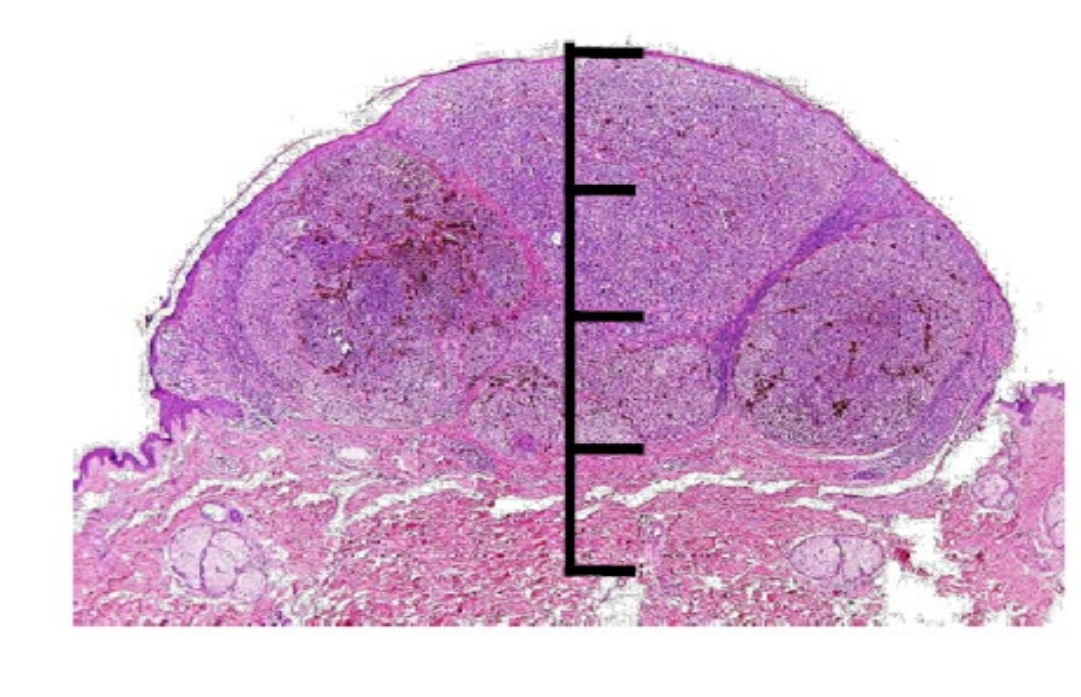
•Rischio metastatico molto basso

Fase di crescita verticale

È la fase tumorigenica

- Nido dermico "espansivo" (nodulo dominante):
- Attività mitotica dermica

Spessore di Breslow

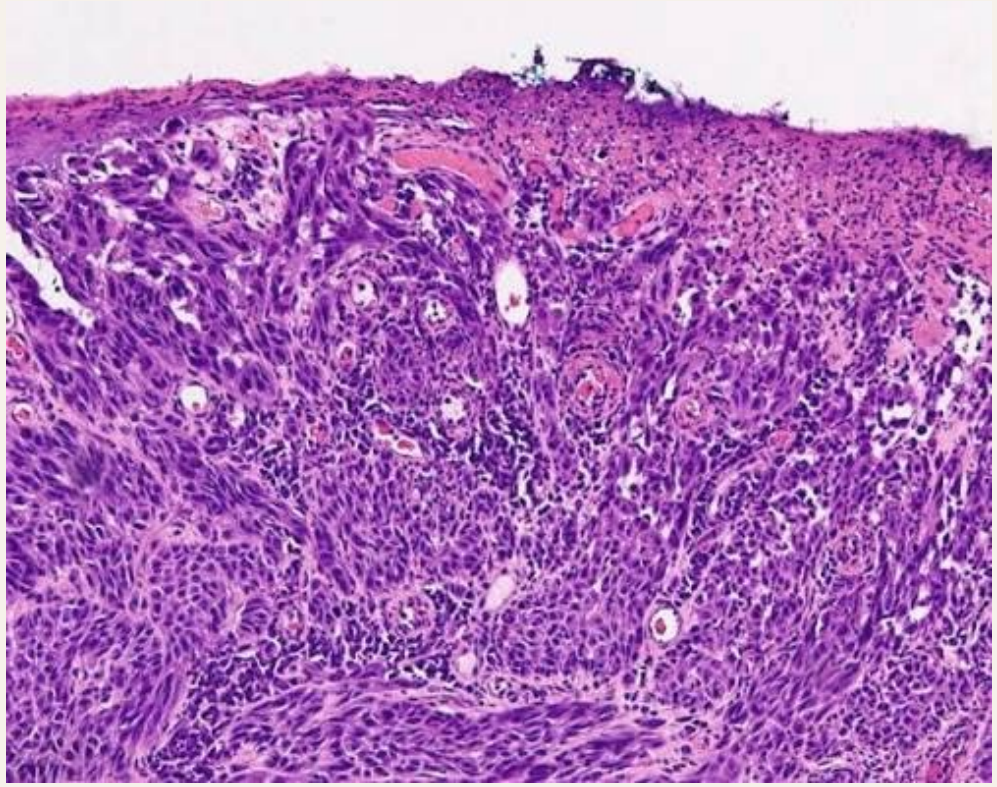


Misura in millimetri dallo strato granuloso al punto di invasione più profondo
Se la lesione è ulcerata si misura dalla base dell'ulcerazione

E' il fattore prognostico più importante

Guida l'indicazione alla biopsia del linfonodo sentinella.

Ulcerazione

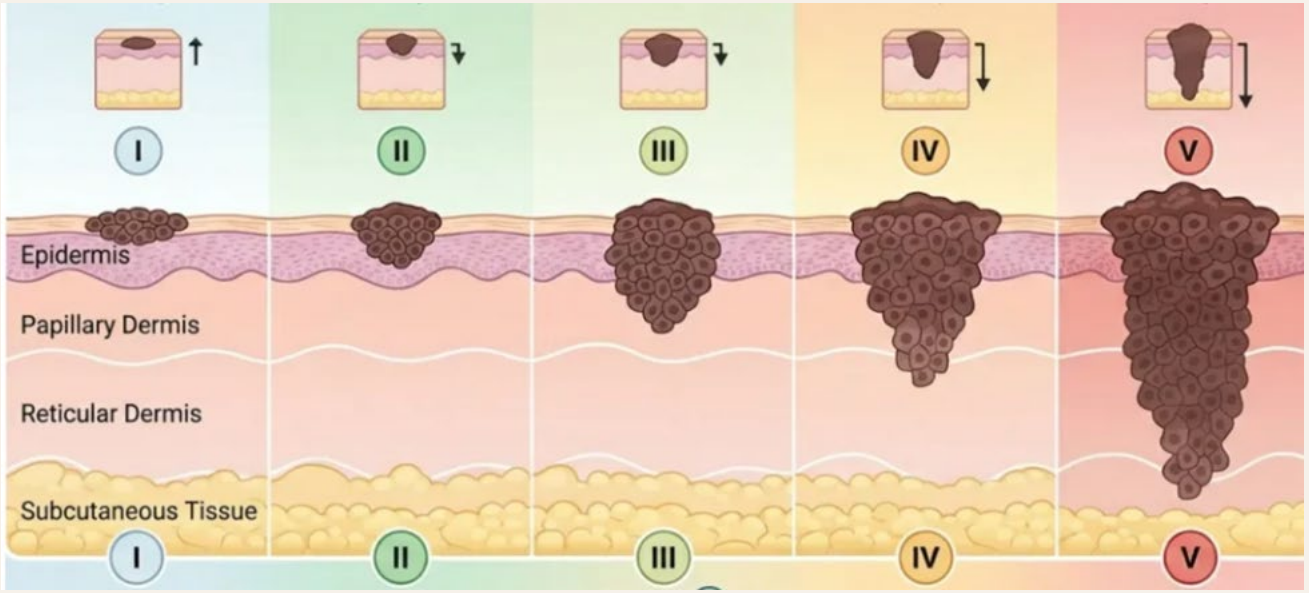


- Assenza dell'epidermide sovrastante la neoplasia, con reazione infiammatoria associata (fibrina, neutrofili) e iperplasia reattiva dell’epidermide adiacente

- Fattore prognostico sfavorevole indipendente
- Suddivide ogni categoria T in "a" (assente) e "b" (presente)
- Estensione dell’ulcerazione

Hout FEM, Haydu LE, Murali R, Bonenkamp JJ, Thompson JF, Scolyer RA. Prognostic importance of the extent of ulceration in patients with clinically localized cutaneous melanoma. Annals of Surgery. 2012;255(6):1165-1170.

Livello di Clark



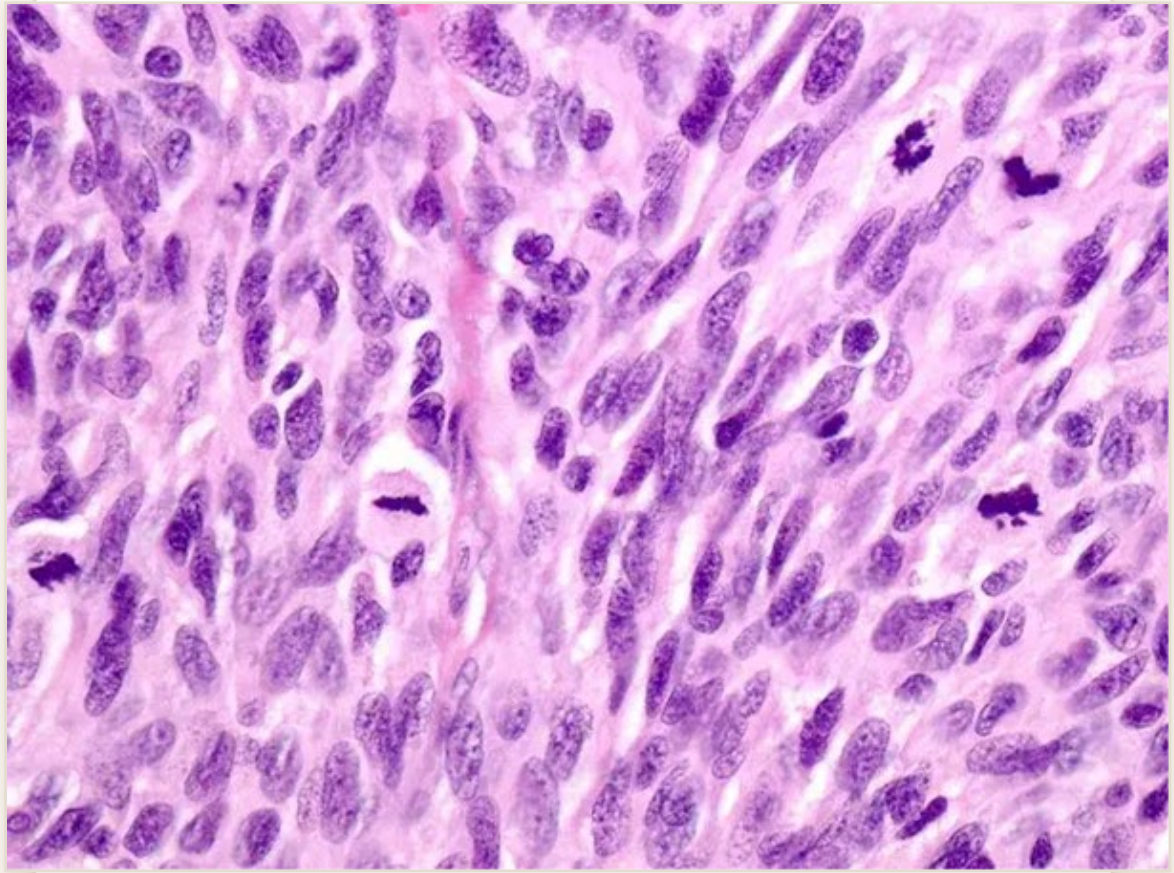
Non è incluso nell'attuale Sistema di stadiazione AJCC

Utile soprattutto nei melanomi sottili (< 1 mm) dove ha dimostrato valore prognostico

Scarsamente riproducibile

Phyllis A. Gimotty et al. Identification of High-Risk Patients Among Those Diagnosed With Thin Cutaneous Melanomas. J Clin Oncol 25, 1129-1134(2007)

Indice mitotico

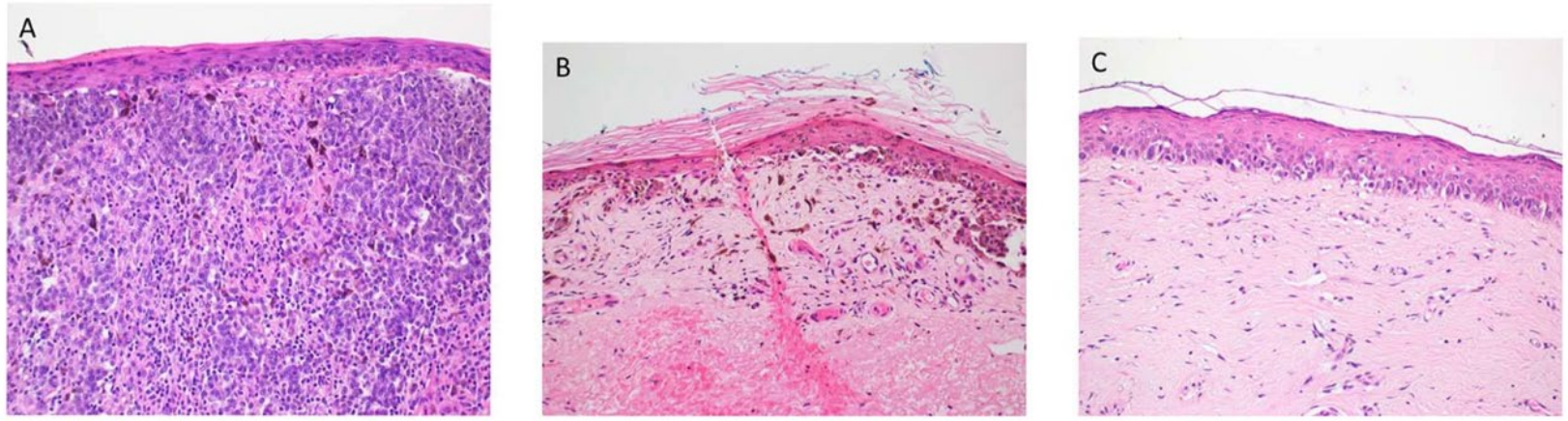


Indice mitotico

- Numero di mitosi per mm^2 iniziando dall'area dermica più attiva ("*hot spot*").
- Non più utilizzata per distinguere pT1a da pT1b
- Correlato al rischio di metastasi linfonodale

Regressione

- Sostituzione parziale o completa delle cellule tumorali associata a infiltrato infiammatorio, melanofagi e/o neovascolarizzazione e fibrosi dermica
- Assente vs presente (maggiore o minore del 75%)
- pazienti con melanoma invasivo <1 mm spessore potrebbe identificare i pazienti con maggiore rischio di positività al linfonodo sentinella



A Tumor-infiltrating lymphocytes. **B** Intermediate regression. **C** Late regression.

Microsatellitosi

Microsatellitosi

- Presenza di metastasi microscopica cutanea e/o sottocutanea adiacente o in profondità rispetto al melanoma primitivo
- Nella classificazione AJCC configura uno stadio clinico III
- Correla con rischio di recidiva cutanea e lo sviluppo di metastasi in transito

Invasione linfovascolare

Presenza di cellule neoplastiche in vasi linfatici, ematici
Peggiore OS

Invasione perineurale

Rischio recidiva locale

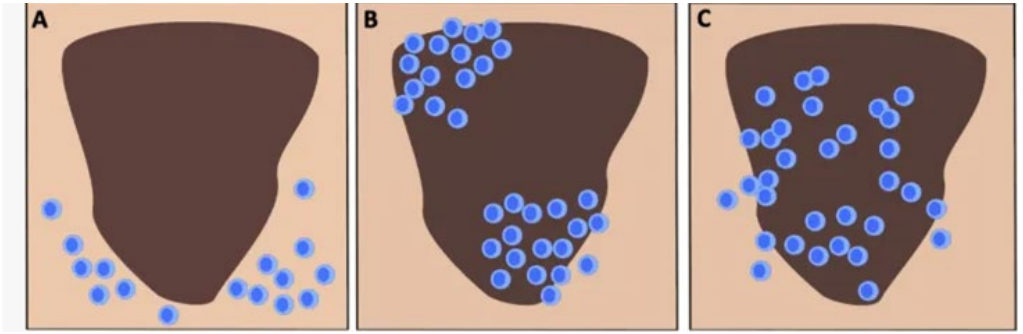
TIL-linfociti infiltranti il tumore

TIL

- Prognosi favorevole
- Relazione tra TILs a predittività di positività del linfonodo sentinella e sopravvivenza

Azimi, F et al (2012). Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. Journal of Clinical Oncology, 30(21), 2678–2683.

- TILs ”assenti” (non sono presenti linfociti o, se presenti, non sono in contatto con le cellule neoplastiche)
- TILs “non brisk” (focali aree contenenti infiltrati linfocitari intratumorali, che possono essere isolate, multifocali o segmentali);
- TILs “brisk” (infiltrato linfocitario a livello del fronte di crescita del tumore o permeazione diffusa del tumore).

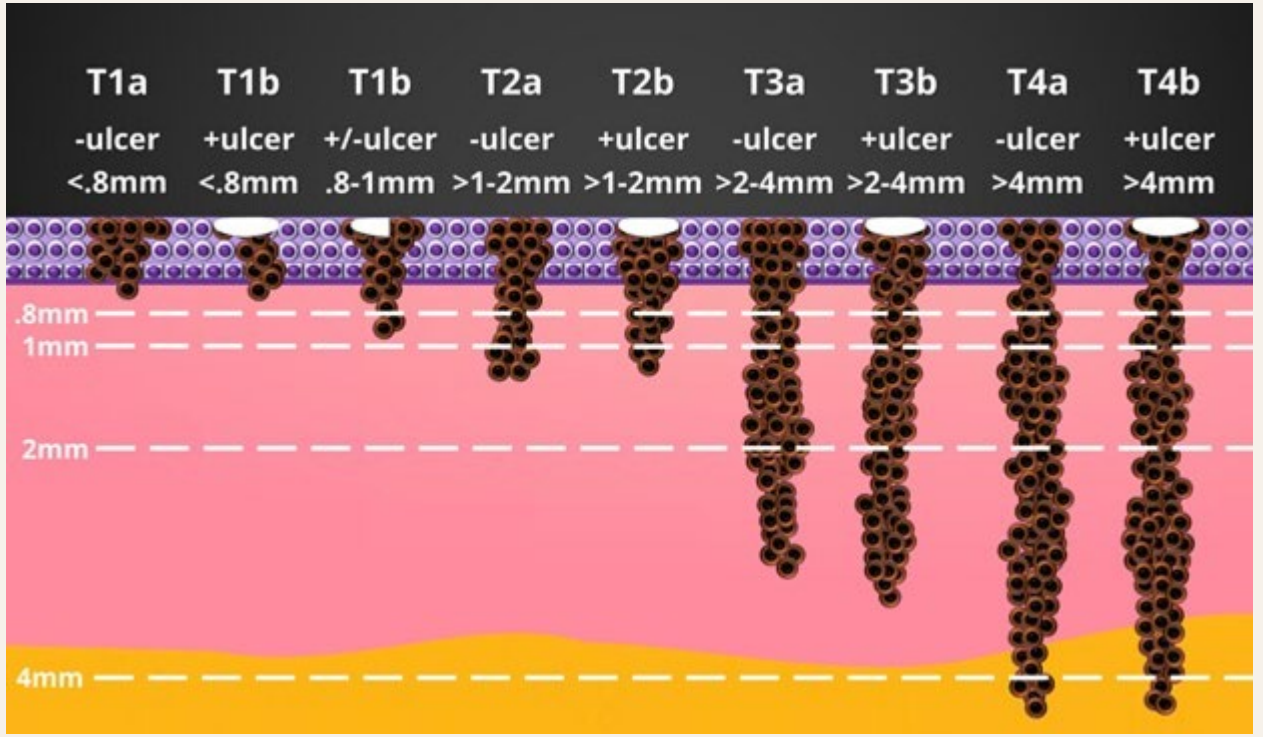


Stadiazione pTNM (AJCC)

T

Tumore primitivo

Definito da
-Spessore di Breslow
-Ulcerazione



Stadiazione pTNM (AJCC)

T

Tumore primitivo

Definito da
-Spessore di Breslow
-Ulcerazione

N

Linfonodi regionali

Numero di linfonodi coinvolti e presenza di metastasi in transito o satellitosi

M

Metastasi a distanza

Sede della metastasi (cutanea, viscerale, SNC) e livello di LDH sierica

Diagnosi istologica e biomarcatori del melanoma

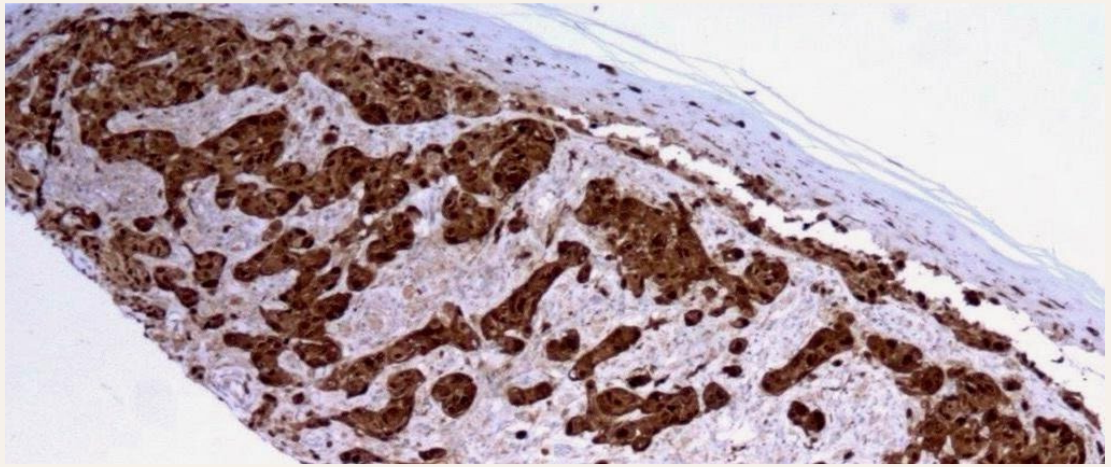
- ✓ Marker immunoistochimici
- ✓ Biomarcatori molecolari

Immunoistochimica

Marcatori impiegati a supporto della diagnosi

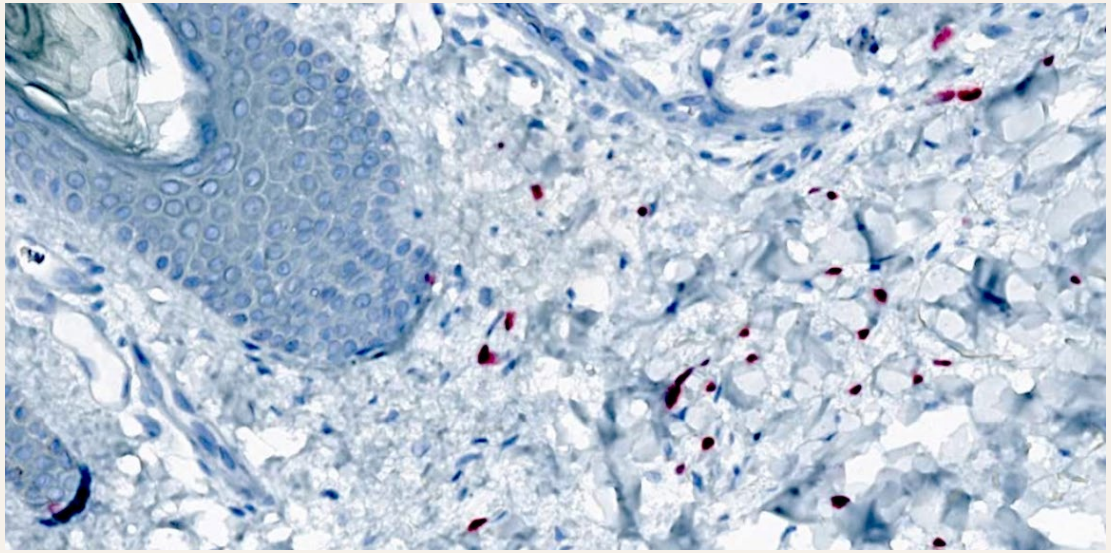
S100

Marcatore sensibile ma poco specifico di origine melanocitaria



SOX10

Marcatore nucleare molto sensibile, utile anche nei melanomi desmoplastici



Immunoistochimica

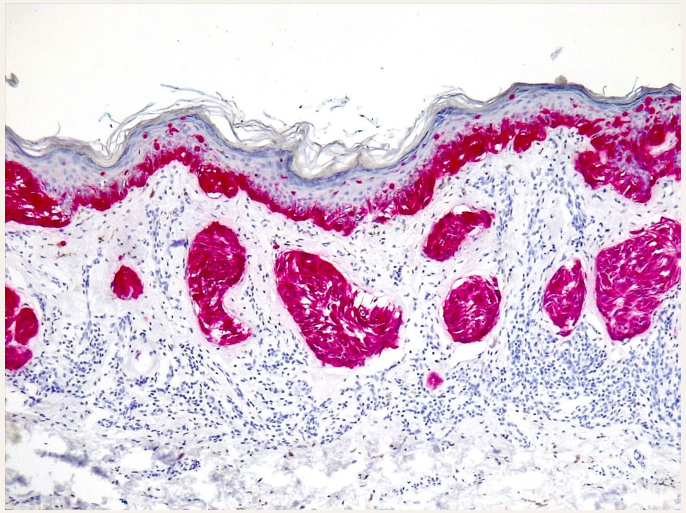
Marcatori impiegati a supporto della diagnosi

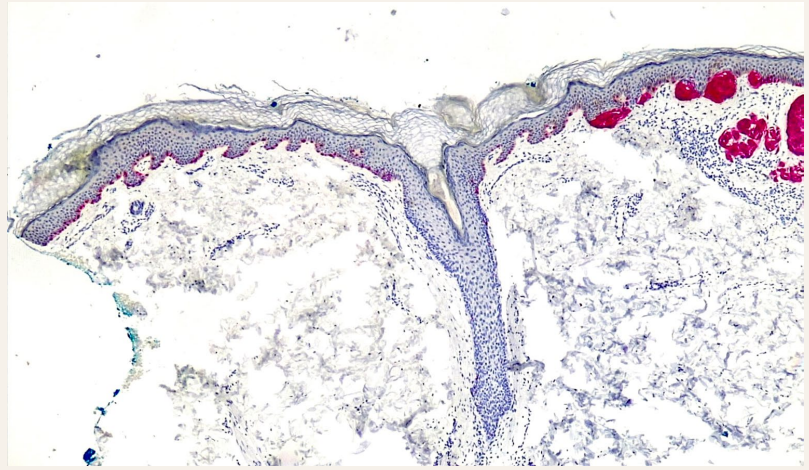
Melan-A / MART-1

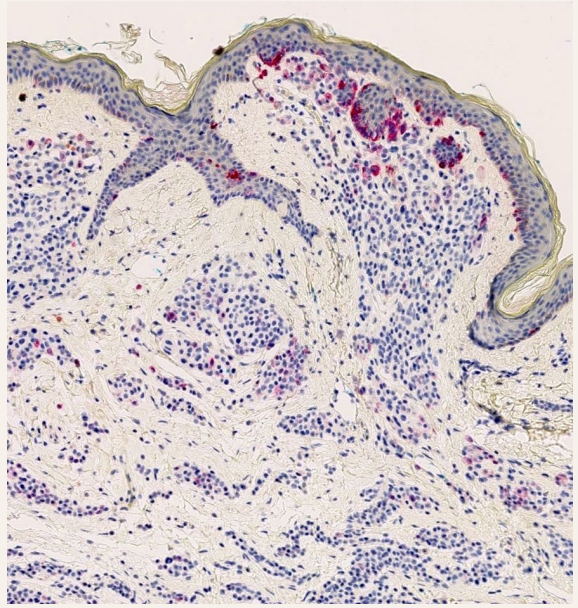
Marcatore melanocitario

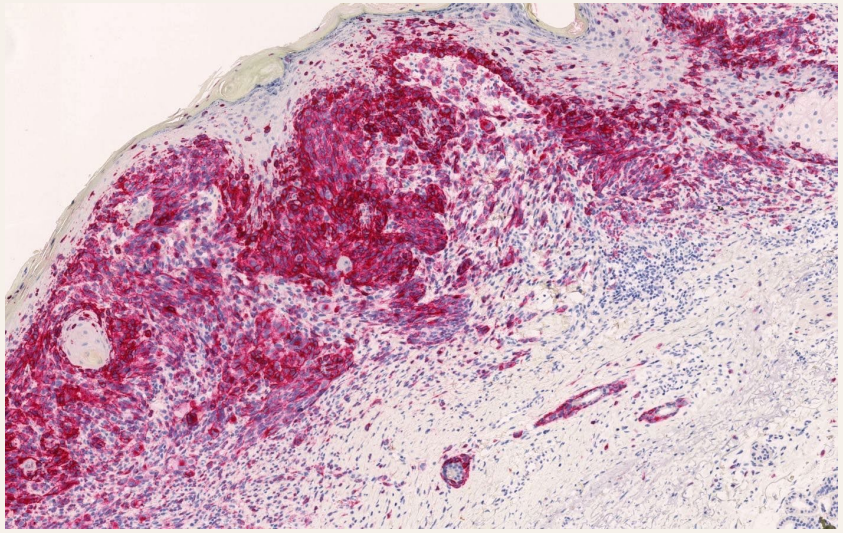
HMB-45

Marcatore melanocitario (melanosomi)



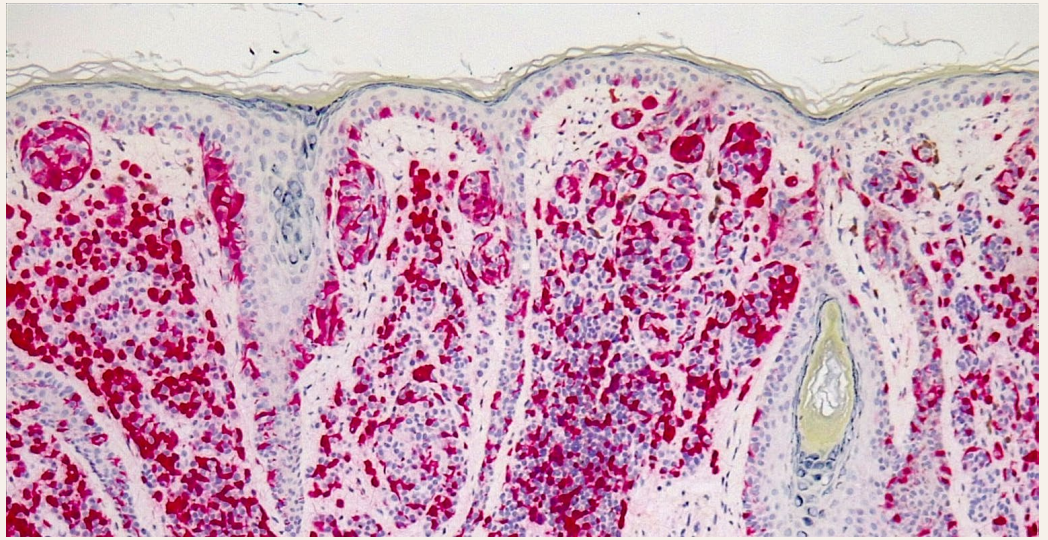




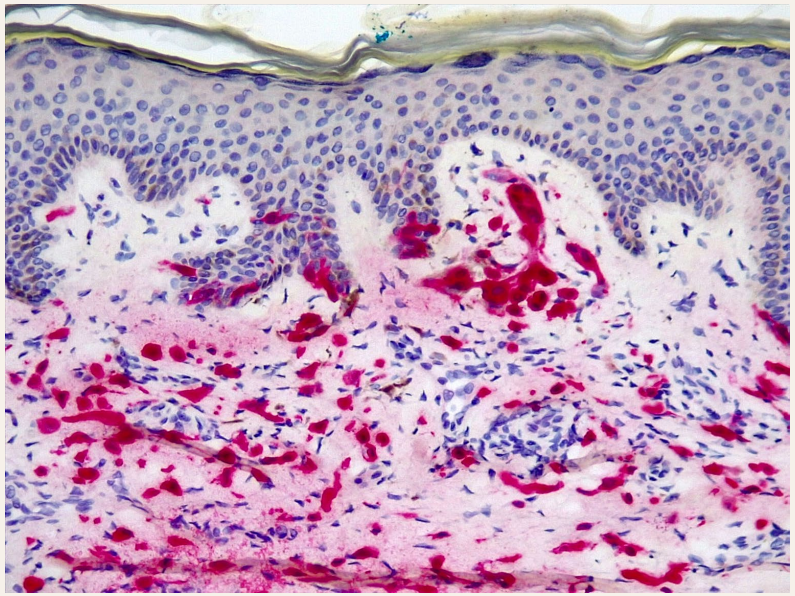


p16

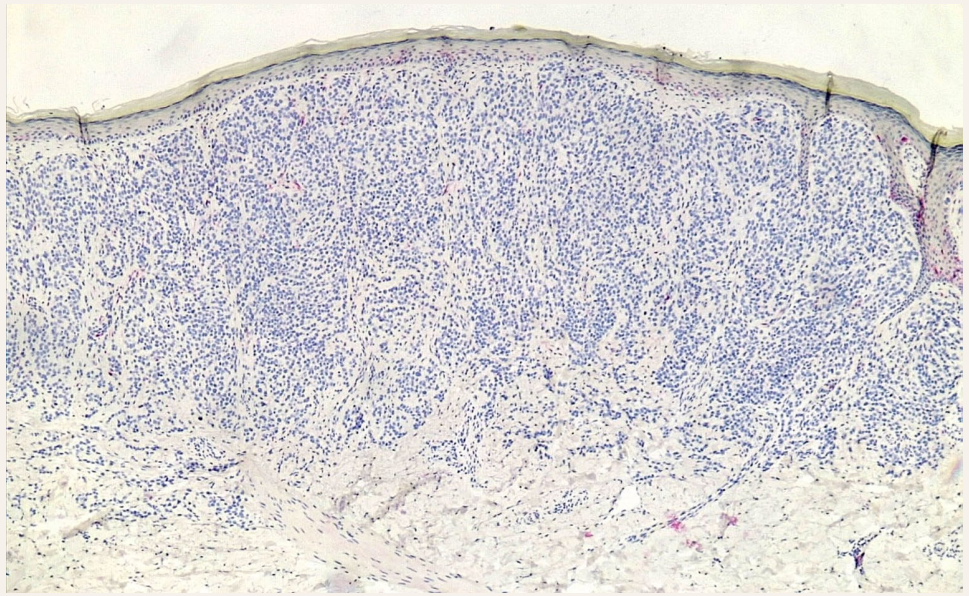
Proteina p16 (codificata dal gene CDKN2A)
Funzione oncosopressore



Conservata espressione “A Scacchiera” (Lesioni Benigne)



Diffusa espressione (Nevi di Spitz)



Perdita di espressione nei Melanomi

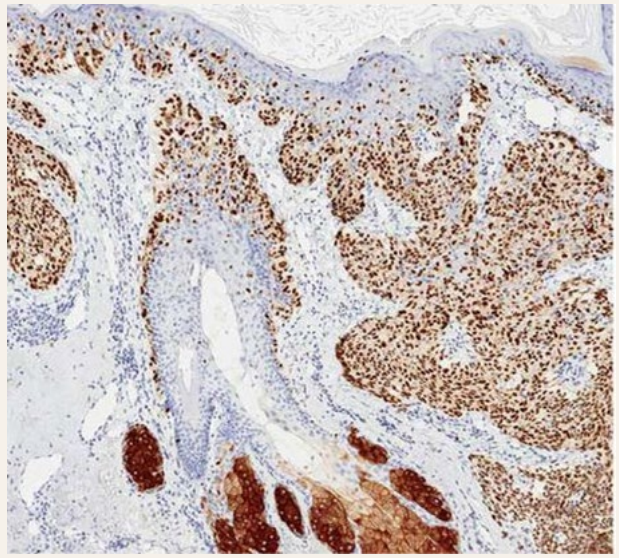
PRAME

Cos'è

PReferentially expressed Antigen in MElanoma
Antigene isolato da linfociti T di un paziente con melanoma
Si rileva con immunoistochimica come marcatore nucleare.

Interpretazione

Positività nucleare
Diffusa e intensa
>75% dei nuclei



Utilizzo

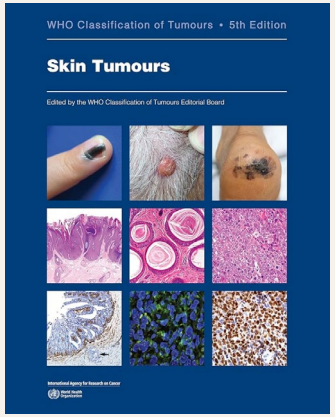
Positivo nell'87% dei Melanoma Metastatici
Positivo nell'83% dei melanoma primitivi
Aiuta nella valutazione dei margini chirurgici (in particolare nella lentigo maligna)

Limiti

~20% dei Melanomi sono negativi
Alcuni nevi (es. Spitz, nevo penetrante profondo) possono mostrare positività
Va sempre interpretato nel contesto morfologico.

Alterazioni genetiche nel Melanoma

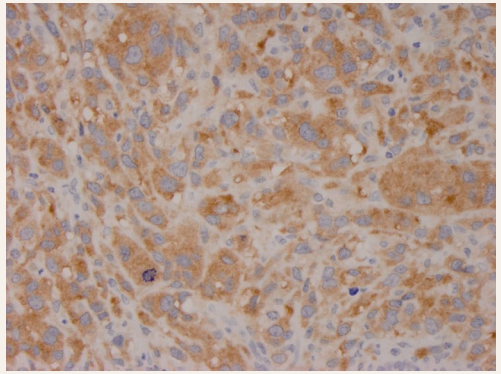
Pathway(s)	Type of melanoma				
	High-CSD	**Low-CSD**	**Acral/mucosal**	**Uveal**	**Spitz**
MAPK pathway activation	***NF1* loss**, *NRAS*, *BRAF* non-p.V600E, *KIT*	***BRAF* p.V600E**, *NRAS*	***KIT***, *NRAS*, *NF1*, or *SPRED1* loss *BRAF* p.V600E, *KRAS* Fusions of *NTRK3*, *BRAF* Amplifications of *PAK1*/*GAB2*, *CCND1*	*GNAQ*, *GNA11*, *CYSLTR2*, *PLCB4*	*HRAS* Fusions of *ROS1*, *NTRK1*, *NTRK3*, *ALK*, *RET*, *MET*, *BRAF*, *MAP3K8*
G1/S checkpoint	*CDKN2A* loss	*CDKN2A* loss	*CDKN2A* loss *CDK4* amplification	*CDKN2A* loss rare	*CDKN2A* loss
p53 pathway	*CDKN2A* loss *TP53* mutations	*CDKN2A* loss *TP53* mutations	*CDKN2A* loss *TP53* mutations	*TP53* mutations extremely rare	*CDKN2A* loss
Chromatin modifiers	SWI/SNF	SWI/SNF	SWI/SNF	*BAP1*	Unknown
Other alterations	*TERT* promoter mutations	*TERT* promoter mutations	*TERT* amplification	*SF3B1*, *EIF1AX*	*TERT* promoter mutations



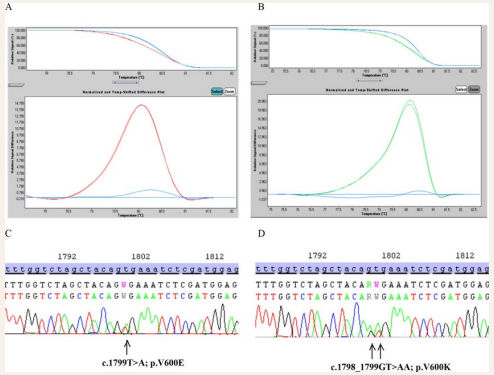
Genetic alterations within common signalling pathways in various types of melanomas; the affected genes are listed in order of frequency
Low/high-CSD melanoma, melanoma in skin with a low/high degree of cumulative sun damage.Copyright Bastian BC

Biomarcatori Molecolari e Implicazioni terapeutiche

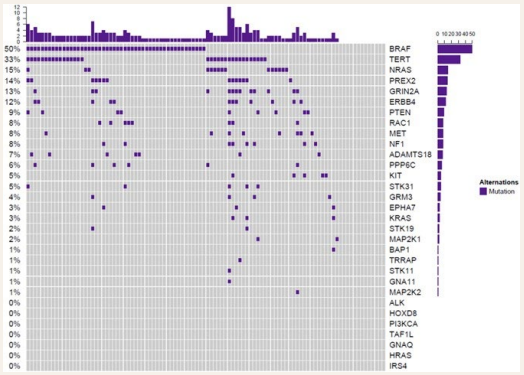
Marker	Frequency	Therapeutic Implication
BRAF V600E	~40–60%	BRAF Inhibitors ± MEK inhibitors (e.g., vemurafenib, dabrafenib)
NRAS	~15–20%	MEK inhibitors (off-label use)
KIT	<5% (mucosal/acral)	KIT inhibitors (e.g., imatinib, nilotinib)



Immunoistochimica



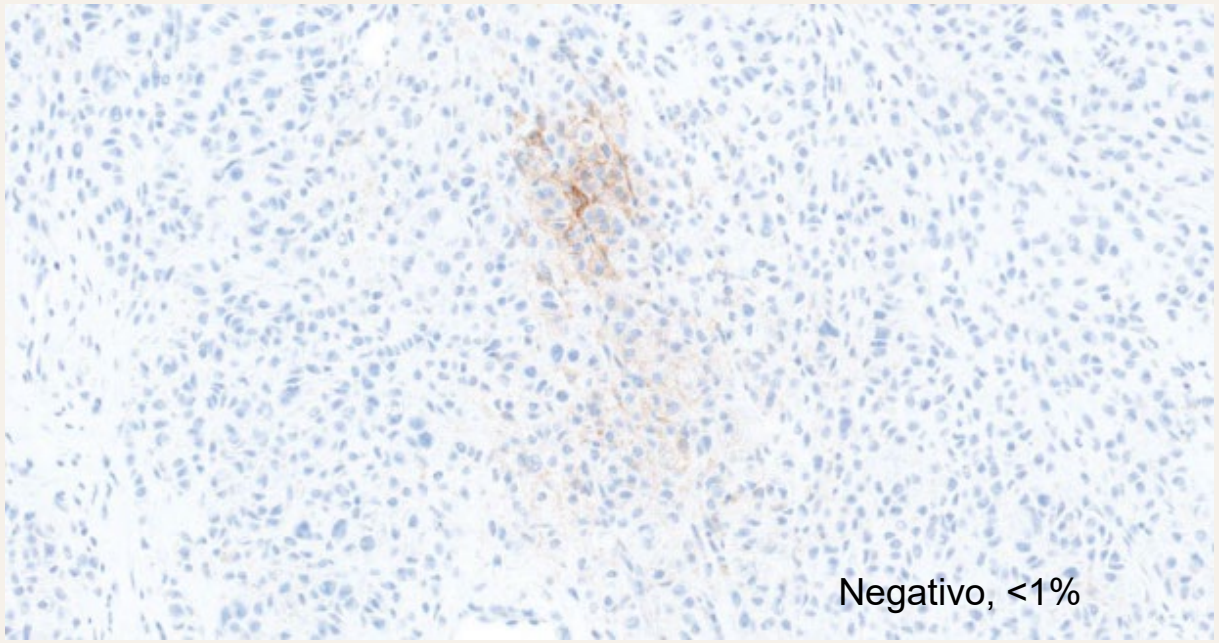
Real Time - PCR

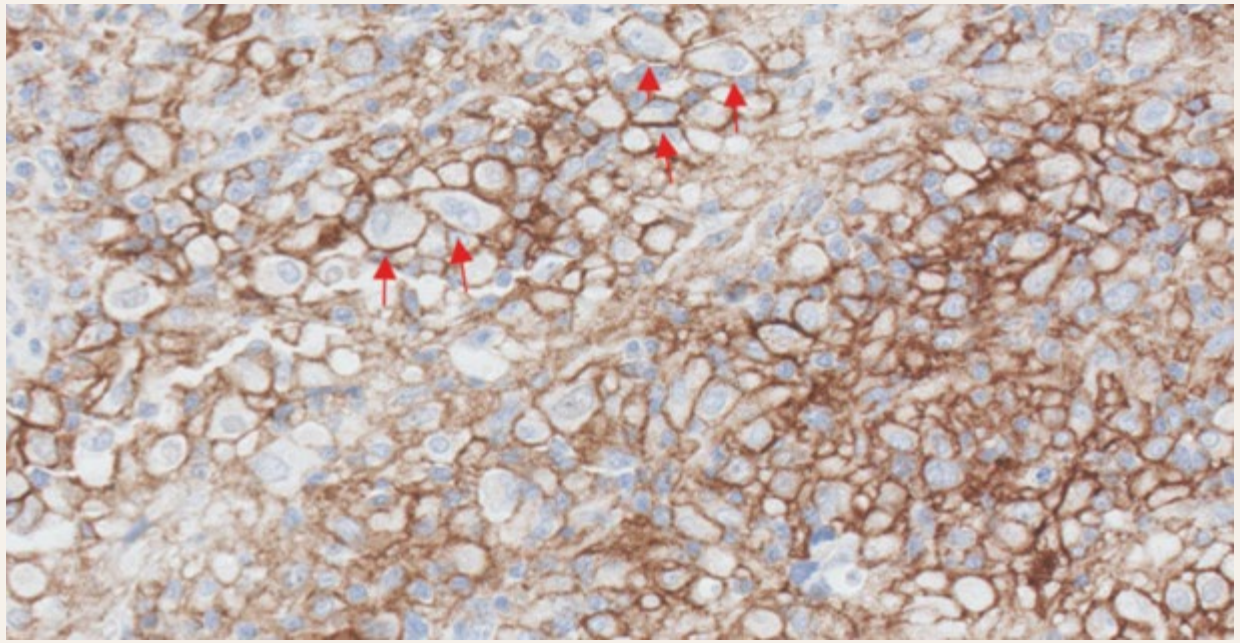


Next generation Sequencing

Biomarcatori Molecolari e Implicazioni terapeutiche

Marker	Function	Therapeutic Implication
PD-L1	Immune evasion via T-cell inhibition	Predictor for immunotherapy response (e.g., Pembrolizumab, Nivolumab)





Statistiche Anno 2025 ULSS8 Berica

- ✓ Totale esami istologici: **40508**
- ✓ Campioni di cute: **15514**
- ✓ Lesioni Neoplastiche: **11794** → Lesioni melanocitarie: **5377**
- ✓ Lesioni Neviche: **4284** Melanomi: **1093**
- ✓ Dati 2021 → Lesioni Melanocitarie: **2373** Melanomi: **376**

Punti chiave

- ✓ Il referto deve sempre riportare oltre alla diagnosi, tutte le informazioni istoprognostiche
- ✓ I parametri prognostici più importanti sono il Breslow e ulcerazione
- ✓ TNM/AJCC integra i dati istologici in uno stadio clinico utile alla terapia e follow up
- ✓ L'immunoistochimica e il profilo mutazionale supportano la diagnosi e guidano scelte terapeutiche mirate