



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

SCUOLA DI MEDICINA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA TRASLAZIONALE

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in Medicina e Chirurgia

Tesi di Laurea

**MELANOMA CON METASTASI AL LINFONODO
SENTINELLA CLINICAMENTE OCCULTE, GESTIONE
CHIRURGICA E IMPATTO DELLE NUOVE TERAPIE
ADIUVANTI: EVIDENZE DA UNA COORTE PROSPETTICA
MONOISTITUZIONALE.**

Relatore:

Chiar.ma Prof.ssa Paola SAVOIA

Correlatore:

Chiar.mo Dott. Marco GHIGLIONE

Candidato:

Margherita MAUTINO

Matricola 20032216

Anno Accademico 2023/2024

Sommario

MELANOMA CON METASTASI AL LINFONODO SENTINELLA CLINICAMENTE OCCULTE, GESTIONE CHIRURGICA E IMPATTO DELLE NUOVE TERAPIE ADIUVANTI: EVIDENZE DA UNA COORTE PROSPETTICA MONOISTITUZIONALE.	1
Capitolo 1 – INTRODUZIONE	1
1.1 IL MELANOMA.....	1
1.1.1 DEFINIZIONE.....	1
1.1.2 EPIDEMIOLOGIA.....	2
1.1.3 FATTORI DI RISCHIO E PREVENZIONE.....	3
1.1.4 DIAGNOSI CLINICA E PATOLOGICA (ESCISSIONE CHIRURGICA).....	7
1.1.5 REFERTO ISTOLOGICO: STADIAZIONE.....	8
1.1.6 REFERTO ISTOLOGICO: FATTORI PROGNOSTICI	11
1.2 TERAPIA	16
1.2.1 TERAPIA CHIRURGICA: ESCISSIONE PRIMARIA, ALLARGAMENTO E BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA.....	16
1.2.2 TERAPIA ADIUVANTE.....	21
1.2.3 LINFADENECTOMIA.....	29
Capitolo 2 – OBIETTIVI DELLO STUDIO.....	31
Capitolo 3 - MATERIALI E METODI.....	32
3.1 SELEZIONE DEI PAZIENTI	32
3.2 RACCOLTA DATI.....	33
3.3 ANALISI STATISTICHE.....	36
Capitolo 4 – RISULTATI	37
4.1 CARATTERISTICHE DEL CAMPIONE.....	37
4.2 OVERALL SURVIVAL	46
4.3 DISEASE FREE SURVIVAL.....	47
Capitolo 5 – DISCUSSIONE.....	49
Capitolo 6 – CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI	62
RINGRAZIAMENTI.....	64
BIBLIOGRAFIA	65

Capitolo 1 – **INTRODUZIONE**

1.1 IL MELANOMA

1.1.1 DEFINIZIONE

Il melanoma cutaneo è un tumore maligno che origina dai melanociti, cellule responsabili della produzione della melanina, il pigmento che determina la colorazione cutanea.

Analogamente ai nevi, il melanoma può insorgere in tutti i distretti corporei in cui sono normalmente presenti i melanociti (tutta la superficie cutanea, con maggiore incidenza nelle aree fotoesposte); inoltre può svilupparsi, benché più di rado, in altre sedi, quali mucose (*melanoma primitivo delle mucose*), meningi e uvea (*melanoma uveale*).

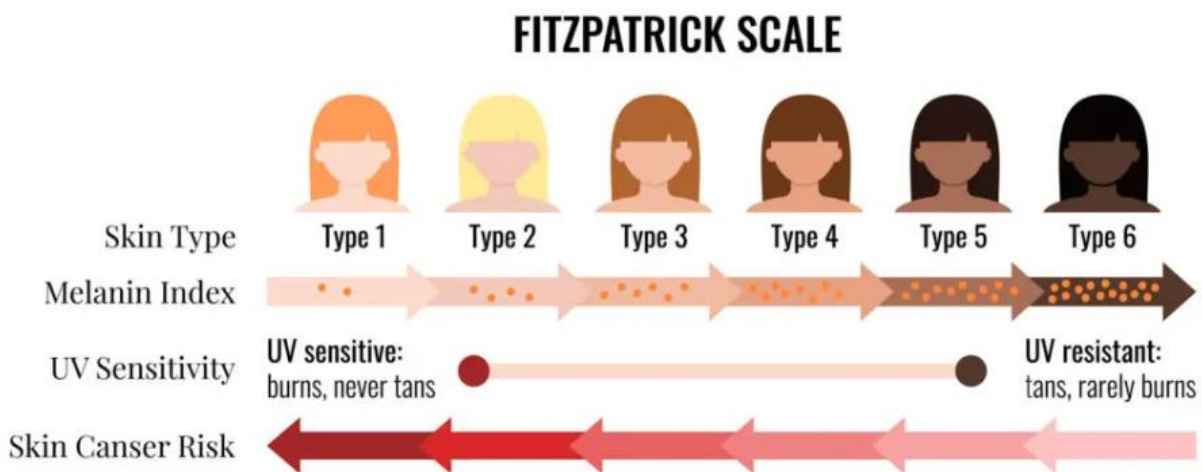
L'eziologia del termine melanoma è da ricondurre a Ippocrate, che già nel V secolo a.C. descrisse il tumore a partire dall'unione dei termini $\mu\epsilon\lambda\alpha\varsigma$ - (scuro) e $-ο\mu\alpha$ (tumore). I primi tentativi di eradicazione chirurgica della patologia di cui sia giunta traccia furono successivi, risalenti al XVIII secolo: John Hunter fu il primo medico a intervenire chirurgicamente su una lesione nel 1787, che in seguito descrisse come “escrescenza cancerosa fungoide”. Nel 1968 il campione asportato da Hunter, conservato per quasi due secoli, venne analizzato e si confermò la diagnosi di melanoma metastatico [1].

Pur non trattandosi di una patologia di recente scoperta, quindi, la diagnosi e il trattamento di melanoma rappresentano una sfida per i sistemi sanitari di tutto il mondo, per due motivazioni principali, tanto epidemiologiche quanto patogenetiche: in primis, poiché l'incidenza del tumore ha registrato un costante aumento negli ultimi decenni, anche tra i pazienti giovani, e secondariamente perché si tratta di un tumore biologicamente e clinicamente aggressivo. Tra i tumori cutanei maligni, infatti, il melanoma è il più raro (rappresenta il 5% delle diagnosi, contro l'80% circa del carcinoma basocellulare e il 16% del carcinoma squamocellulare) e tuttavia il più aggressivo, sia localmente e sia in termini di probabilità di dare metastasi [2].

1.1.2 EPIDEMIOLOGIA

Circa l'85% dei melanomi cutanei che vengono diagnosticati ogni anno nel mondo colpiscono le popolazioni di Nord America, Europa e Oceania (con particolare menzione per l'Australia, che presenta i valori di incidenza di melanoma più alti al mondo) [3]. Tale fenomeno è dovuto a una motivazione demografica: la probabilità di sviluppare melanoma è maggiore nei soggetti di etnia caucasica, poiché i fototipi chiari rappresentano fattori di rischio. Per tale motivo, il tumore segue geograficamente la distribuzione dei fototipi più bassi nella classificazione di Fitzpatrick.

Figura 1.1 - Classificazione dei fototipi di Fitzpatrick



Secondo il medesimo principio, l'Europa stessa presenta un gradiente di incidenza Nord-Sud: i Paesi mediterranei sono complessivamente meno colpiti dalla patologia. Questa discrepanza viene attribuita a due fattori: in primis la maggiore protezione dai raggi UV conferita dalla pelle più pigmentata (tipica delle popolazioni dell'Europa meridionale) e in aggiunta un differente pattern di esposizione ai raggi solari (tutto l'anno nei Paesi mediterranei rispetto a saltuariamente nel Nord Europa) [4].

Nonostante l'Italia rientri quindi nella zona a minore incidenza di patologia, il numero di nuovi casi di melanoma è in ascesa in entrambi i sessi (maschi +4,4% all'anno e femmine +3,1% all'anno) e ammontava nel 2022 a 12.700 nuove diagnosi, con una prevalenza maggiore nel sesso maschile (7000 uomini rispetto a 5700 donne) [5].

Il melanoma è inoltre uno dei più comuni tumori a manifestazione in giovane età: nella popolazione italiana è infatti il secondo tumore più diffuso negli uomini al di sotto i 50 anni e il terzo più frequente nelle donne per la stessa età.

Come in diversi Paesi occidentali, nonostante un notevole aumento dell'incidenza, la mortalità correlata al melanoma cutaneo è rimasta sostanzialmente stabile. Nel 2016, in Italia, si sono registrati 2028 decessi a causa di questa patologia, che costituiscono circa l'1% di tutti i decessi dovuti a neoplasie in entrambi i sessi.

La sopravvivenza netta a 5 anni in Italia, standardizzata per età, è dell'88% per gli uomini e del 91% per le donne, secondo i dati provenienti da 42 Registri Tumori, con un totale di 22.023 casi osservati.

Nel 2022, in Italia, la prevalenza della patologia era di 169.900 abitanti (80.100 maschi e 89.800 femmine), rappresentando circa lo 0,3% del totale della popolazione. Questo dato è in aumento rispetto al 2006, quando le persone ancora in vita dopo aver ricevuto una diagnosi di melanoma della cute erano approssimativamente 80.000 [5].

1.1.3 FATTORI DI RISCHIO E PREVENZIONE

I principali fattori di rischio per lo sviluppo di melanoma includono: il numero di nevi comuni e atipici, le caratteristiche fenotipiche, la storia familiare o personale di melanoma, carcinomi cutanei e lesioni precancerose e il pattern di esposizione alle radiazioni ultraviolette.

In alcuni casi, inoltre, il melanoma si associa ad una trasmissione genetica, come nelle sindromi del *melanoma familiare*.

Esistono tre principali categorie di fattori di rischio: genetici, fenotipici e ambientali.

Fattori genetici

Per quanto riguarda i fattori genetici, essi comprendono la storia familiare di melanoma cutaneo, la presenza di mutazioni genetiche (in particolare CDKN2A) e un'anamnesi positiva per pregresso melanoma o carcinomi della cute o altre neoplasie specifiche come il carcinoma

del pancreas nel caso delle sindromi familiari associate a mutazione CDKN2A. Nella sottocategoria di pazienti affetti da *melanoma multiplo* dovrebbe essere ponderata la valutazione genetica della mutazione di CDKN2A [6-7].

Fattori fenotipici

I fattori fenotipici sono costituiti invece da: presenza e numero di nevi melanocitici, soprattutto atipici e se inseriti nel quadro della *sindrome del nevo displastico*; presenza di un nevo melanocitico congenito di diametro superiore a >20 cm; fototipo cutaneo basso (classe I di Fitzpatrick, numerose lentiggini, capelli rossi o chiari, occhi chiari, pelle chiara) [8-9].

Fattori ambientali

L'esposizione alle radiazioni ultraviolette (sia quelle naturali del sole sia quelle artificiali delle lampade abbronzanti) costituisce infine il più importante fattore di rischio ambientale per il melanoma. In particolare, da alcune revisioni emerge una relazione tra il tipo di esposizione ai raggi solari, l'età e il rischio di sviluppare il melanoma. L'esposizione intermittente e prolungata svolge un ruolo maggiore rispetto all'età in cui ci si espone al sole; tuttavia, l'esposizione in età infantile/adolescenziale determina un maggior rischio rispetto all'età più avanzata (in particolare, sembra rilevante la storia di ustioni ed eritemi nell'infanzia) [10-11-12].

Tabella 1.1 – Fattori di rischio

	Fattore di rischio	SRR
Presenza di nevi melanocitici	16-40 nevi comuni	RR: 1,47; 1,36-1,59
	41-60 nevi comuni	RR: 2,24; 1,90-2,64
	61-80 nevi comuni	RR: 3,26; 2,55-4,15
	81-100 nevi comuni	RR: 4,74; 3,44-6,53
	101-120 nevi comuni	RR: 6,89; 4,63-10,25
	1 nevo atipico	RR: 1,60; 1,38-1,85
	2 nevi atipici	RR: 2,56; 1,91-3,43
	3 nevi atipici	RR: 4,10; 2,64-6,35
	4 nevi atipici	RR: 6,55; 3,65-11,75
	5 nevi atipici	RR: 10,49; 5,05-21,76
	Nevo melanocitico congenito largo (>20 cm)	2%
Caratteristiche fenotipiche	Presenza di numerose lentiggini	RR: 2,10; 1,80-2,45
	Fototipo I	RR: 2,09; 1,67-2,58
	Colore rosso o chiaro di capelli	RR: 3,64; 2,56-5,37
	Occhi chiari	RR: 1,47; 1,28-1,69
	Pelle chiara	RR: 2,06; 1,68-2,52
Storia familiare o personale di melanoma, tumori cutanei non melanoma, lesioni cutanee premaligne	Storia familiare di melanoma	RR: 1,74; 1,41-2,14
	Pregresso melanoma in situ	SIR: 4,59; 4,37-4,82
	Pregresso melanoma invasivo	SIR: 5,42; 5,23-5,61
	Pregressi tumori cutanei non-melanoma e lesioni premaligne	RR: 4,28; 2,80-6,55
	Presenza di lentigo attiniche (danno attinico)	RR: 1,61; 1,31-1,99
Pattern di esposizione a radiazioni ultraviolette	Esposizione solare intensa e intermittente	RR: 1,20; 1,08-1,34
	Pregresse ustioni solari	RR: 2,02; 1,24-3,29
	Esposizione a radiazioni ultraviolette artificiali	RR: 1,87; 1,41-2,48
	Esposizione a radiazioni ultraviolette artificiali prima dei 35 anni	RR: 2,03; 1,73-2,37

SRR: rischio relativo riassuntivo; RR: rischio relativo (IC95%); SIR: rapporto standardizzato di incidenza (IC95%).

Prevenzione primaria

Data l'impossibilità di modificare il proprio assetto genetico e fototipo, la misura preventiva primaria più efficace per ridurre l'incidenza di melanoma è dunque evitare l'esposizione prolungata alla luce solare. Se questo non risultasse possibile, tuttavia, è stato dimostrato che

l'applicazione quotidiana di creme contenenti filtri solari riduce in maniera significativa l'insorgenza di melanomi (HR: 0,50; IC95%: 0,24-1,02; p=0,051) [13].

Anche l'uso di lettini o lampade abbronzanti non è da sottovalutare: aumenta significativamente il rischio di sviluppare un melanoma, soprattutto se il numero di sedute effettuate è elevato e se l'abitudine ha inizio in giovane età (<35 anni) [14].

La prevenzione primaria consiste quindi nell'evitare quanto possibile l'esposizione alle radiazioni ultraviolette, siano esse naturali o artificiali.

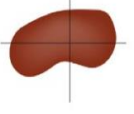


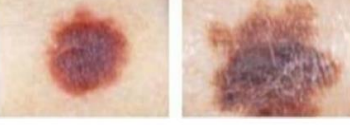

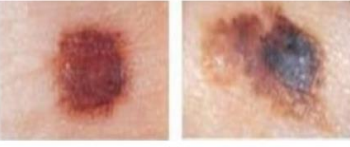
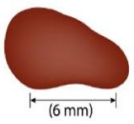

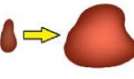

Prevenzione secondaria

La prevenzione secondaria del melanoma si traduce in una diagnosi precoce, poiché nelle fasi iniziali è più probabile che il tumore sia localizzato negli strati più superficiali della cute, riducendo così il rischio che abbia dato disseminazione per via linfatica o ematica.

La diagnosi di melanoma risulta più accurata quando si combinano i benefici dell'esame obiettivo clinico del paziente e l'ausilio della dermatoscopia [15-16-17]. In fase di valutazione iniziale, è utile ricordare che è più comune per un melanoma presentarsi come una lesione insorta *de novo* e non come evoluzione di un nevo che il paziente ricorda di avere da tempo. Per stabilire poi se una lesione presenti delle caratteristiche sospette e in quanto tali meritevoli di successive indagini, si utilizza il sistema ABCDE, che valuta la lesione sulla base di cinque parametri riassunti dall'acronimo sulla base delle loro iniziali: *Asymmetry* (Asimmetria), *Borders* (Bordi irregolari), *Color* (Colore disomogeneo), *Diameter* (Diametro >6mm), *Evolution* (Evoluzione) [18-19]. Un altro criterio sulla base del quale si possono identificare lesioni sospette per melanoma è il segno del "brutto anatroccolo" (*ugly duckling sign*), ovvero un nevo diverso rispetto agli altri che all'occhio del clinico risalta per forma, colore e/o evoluzione rapida [20-21-22].

Altre metodiche diagnostiche comprendono la dermatoscopia digitale sequenziale, la *total body photography* e la microscopia confocale. In futuro si prevede inoltre lo sviluppo di tool diagnostici basati sugli smartphone e l'Intelligenza Artificiale [23].

Tabella 1.2 – Sistema ABCDE

A		Asimmetria: <i>i nevi sono simmetrici mentre il melanoma è asimmetrico</i>	
B		Bordi irregolari: <i>i bordi di un nevo sono regolari, quelli di un melanoma sono frastagliati</i>	
C		Colore disomogeneo: <i>i nevi hanno un colore unico ed uniforme, mentre il melanoma può avere più colori</i>	
D		Diametro > 6 mm: <i>i nevi crescono fino ad un diametro di 6 mm. I melanomi di solito sono superiori ai 6 mm.</i>	
E		Evoluzione: <i>la rapida crescita di un qualunque nevo o macchia pigmentata deve far sospettare un melanoma</i>	

1.1.4 DIAGNOSI CLINICA E PATOLOGICA (ESCISSIONE CHIRURGICA)

Tutte le lesioni pigmentate sospette dovrebbero essere indagate dal punto di vista istologico. La biopsia chirurgica della lesione dovrebbe essere, preferenzialmente, un'escissione completa con margini in tessuto sano di 1-2 mm, al fine di rimuovere tutte le cellule maligne e minimizzare la probabilità di recidive locali di malattia; la losanga di tessuto asportato dovrebbe inoltre orientata longitudinalmente rispetto alla rete linfatica. Questi criteri consentono di effettuare successivamente, se indicata, la biopsia del linfonodo sentinella, in quanto non alterano il drenaggio linfatico del tessuto - se l'escissione della lesione primitiva viene eseguita con margini superiori a 2 mm (ad esempio 3-4 mm) è stato invece dimostrato

un aumento del rischio di falsi negativi al linfonodo sentinella. In sedi come il volto o in presenza di lesioni primitive particolari possono essere prese in considerazione anche la biopsia incisionale (anche tramite *punch*) o lo *shaving*, l'escissione integrale della lesione senza ricostruzione o mediante innesto cutaneo sottile e l'esecuzione contestuale dell'escissione chirurgica del tumore primitivo e della biopsia del linfonodo sentinella [24-25].

1.1.5 REFERTO ISTOLOGICO: STADIAZIONE

La stadiazione del melanoma dovrebbe essere svolta secondo la classificazione TNM come elaborata dall'ottava edizione dell'American Joint Committee on Cancer (AJCC 8a). Di seguito si riportano tre tabelle riassuntive relative ai parametri analizzati [26].

Il parametro T è determinato dallo spessore di Breslow, ovvero indica in millimetri l'estensione in profondità del melanoma, dallo strato granuloso dell'epidermide in superficie all'ultima cellula tumorale in profondità. Si divide inoltre in "a" e "b" sulla base dell'assenza (a) o presenza (b) di ulcerazione della lesione primitiva.

Il parametro N è determinato dal numero di linfonodi loco-regionali coinvolti e dal grado di coinvolgimento. Anche in questo caso si opera una distinzione tra "a" e "b": malattia "clinicamente occulta" (a), quando il linfonodo appare, prima dell'escissione chirurgica e dell'esame istologico, macroscopicamente normale, e "clinicamente manifesta" (b), quando sono evidenti alterazioni di colore o delle dimensioni del linfonodo che fanno sospettare un coinvolgimento patologico.

Infine, il parametro M dipende dalla presenza e dalla sede di metastasi a distanza, in altri organi (i più comunemente colpiti sono encefalo, osso, polmone, fegato) o in stazioni linfonodali non loco-regionali. Si effettuano ulteriori distinzioni sulla base del valore di LDH.

Tabella 1.3 - classificazione T

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

Tabella 1.4 - classificazione N

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

Tabella 1.5 - classificazione M

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

I parametri di T, N e M vengono poi combinati a comporre gli stadi, che sono compresi tra 0 e IV.

Di seguito vengono riportate le tabelle relative alle due stadiazioni: cTNM (stadiazione clinica, pre-operatoria) e pTNM (stadiazione patologica, post-escissione chirurgica ed esame istologico della lesione). [26]

Tabella 1.6 - Stadio clinico (cTNM) (AJCC 8a edizione)

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
Qualsiasi T, Tis	≥N1	M0	III
Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1	IV

Tabella 1.7 – Stadio patologico (pTNM) (AJCC 8a edizione)

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 o N2c	M0	IIIC
T1a/b-T2a	N1a o N2a	M0	IIIA
T1a/b-T2a	N1b/c o N2b	M0	IIIB
T2b/T3a	N1a-N2b	M0	IIIB
T1a-T3a	N2c o N3a/b/c	M0	IIIC
T3b/T4a	Qualsiasi N≥N1	M0	IIIC
T4b	N1a-N2c	M0	IIIC
T4b	N3a/b/c	M0	IIID
Qualsiasi T, Tis	Qualsiasi N	M1	IV

1.1.6 REFERITO ISTOLOGICO: FATTORI PROGNOSTICI

I fattori prognostici che devono sempre essere inclusi all'interno del referto istopatologico sono di seguito riportati.

Istotipo

Definito secondo le categorie diagnostiche della Classificazione dei Tumori della Cute dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO/IARC). Esistono cinque categorie principali: Superficial Spreading, Lentigo Maligna, Nodulare, Acrale e Desmoplastico. [27]

Tabella 1.8 - principali sottotipi istologici di melanoma

Istotipo	Sede	Età media alla diagnosi	Aspetto
Superficial Spreading	Qualsiasi (più comuni: parte superiore del dorso e parte inferiore delle gambe nelle donne)	40-50	Lesioni di colore marrone miste a rosso-blu (violacee), nero-blu, bruno-rosso e spesso rosa-bianche. Il bordo della lesione è, almeno in parte, visibile o palpatariamente rilevabile.
Lentigo Maligna	Aree fotoesposte (più comuni: regione malare della guancia e regione temporale)	70	Lesioni piane di colore bruno e marrone, o occasionalmente grigio-bianche; lesioni nodulari con sfumature bruno-rosse, grigio-blu, nero-blu.
Nodulare	Qualsiasi	40-50	Lesioni blu-rossastre (violacee) o nero-blustre; il colore può essere uniforme o misto a marrone o nero.
Acrale	Palmo delle mani, pianta dei piedi, letto ungueale e membrane mucose	60	Lesioni piane di colore prevalentemente marrone scuro; lesioni rilevate (placche) di colore predominante marrone-nero o blu-nero.
Desmoplastico	Qualsiasi (più comuni: testa e collo)	60	Lesioni di aspetto variabile; pigmentazione frequentemente assente

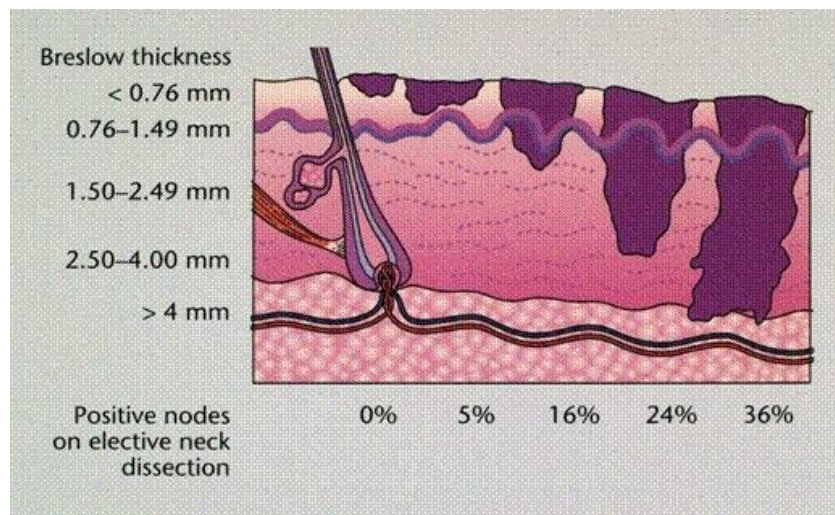
Fase di crescita

Le fasi di crescita del melanoma si possono suddividere in due categorie principali: radiale e verticale. La fase tumorigenica in cui la lesione acquisisce capacità metastatica è quella verticale, che rappresenta un fattore prognostico negativo; pertanto il referto anatomopatologico dovrebbe contenere questa informazione [28].

Spessore di Breslow

È il fattore prognostico più importante. Lo spessore di Breslow è l'estensione della lesione misurata a partire dallo strato granuloso dell'epidermide o, se il tumore presenta ulcerazione, dalla base della stessa fino al punto di massima infiltrazione in profondità [29]. Determina, insieme all'ulcerazione, il valore dello stadio TNM [26].

Figura 1.2 – Classificazione in base allo spessore di Breslow



Livello di Clark

Ha un valore prognostico significativo soprattutto nelle lesioni con spessore di Breslow <1mm [30].

Ulcerazione

Un fattore prognostico fondamentale [31] - è una delle caratteristiche che divide la categoria stadiativa T in "a" (ulcerazione assente) e "b" (ulcerazione presente) [26].

Si può definire la lesione in esame ulcerata se:

- A. Manca a tutto spessore l'epidermide, strato corneo incluso;
- B. Sono presenti fenomeni reattivi, quali depositi di fibrina e neutrofili;
- C. Si è verificata iperplasia reattiva o assottigliamento dell'epidermide adiacente in assenza di storia di traumi.

Indice mitotico

Viene indicato con il numero di mitosi/mm², e calcolato all'interno della componente invasiva del tumore nell'area definita "hotspot", ovvero dotata di maggiore attività mitotica [32].

Linfociti infiltranti il tumore

A differenza di tutti i fattori prognostici precedentemente citati, la presenza di linfociti infiltranti il tumore (*Tumor-Infiltrating Lymphocytes* o TILs) è un fattore prognostico positivo [33-34-35]: indica infatti la reattività del sistema immunitario nei confronti della neoplasia.

I TILs possono essere classificati, in ordine crescente di infiltrazione tumorale, come:

1. Assenti
2. Non brisk (presenti, ma soltanto alla periferia della neoplasia)
3. Brisk (presenti all'interno della lesione tumorale).

Regressione

Nel contesto del melanoma, è definita regressione istopatologica la sostituzione parziale o completa delle cellule tumorali, accompagnata da un infiltrato infiammatorio composto da monociti e melanofagi e/o neovascolarizzazione e fibrosi dermica [36-37].

Nella *fase iniziale o infiammatoria*, si osserva l'infiltrato infiammatorio mononucleare (infoistiocitario) e neoangiogenesi, mentre nella *fase avanzata (non infiammatoria o fibrotica)* si verifica una diminuzione fino all'assenza della componente linfocitaria. In questa fase successiva, si osserva la presenza di melanofagi ed emergono fenomeni di fibrosclerosi, con obliterazione focale o diffusa della neoplasia, comunemente nota come *fase tardiva*.

La regressione va riportata nel referto non solo indicando se essa sia assente o presente, ma anche includendo un'ulteriore distinzione con cut-off del 75%, come segue:

- A. Regressione estesa oltre il 75%: il paziente ha un maggior rischio di positività al linfonodo sentinella, in quanto ciò che è visibile del tumore al momento della diagnosi potrebbe essere solo una frazione di quanto presente prima della regressione [38].
- B. Regressione inferiore al 75%
- C. Assente: rappresenta al contrario un fattore prognostico positivo.

Microsatellitosi, invasione linfovascolare e perineurale.

Per microsatellitosi si intende la presenza di una disseminazione melanomatosa a livello cutaneo e/o sottocutaneo. Non c'è continuità tra l'aggregato di cellule melanocitarie e la lesione primitiva, ma non è nemmeno presente l'interposizione di aree di fibrosi o infiltrato infiammatorio, che indicherebbe invece un processo di regressione in corso [39].

L'invasione linfovascolare, invece, consiste nell'individuazione di cellule neoplastiche provenienti dal melanoma all'interno dei vasi linfatici ed ematici, dimostrata morfologicamente in corso di biopsia.

Infine, l'invasione perineurale rappresenta la presenza di cellule tumorali nei pressi o all'interno di una terminazione nervosa.

La presenza di questi tre fattori incide notevolmente sulla prognosi, aumentando il rischio di sviluppo sia di secondarismi cutanei (*metastasi in transit*) che linfonodali [40].

Classificazione molecolare

Il melanoma è un tumore caratterizzato da un elevato numero di mutazioni somatiche; si tratta soprattutto di sostituzioni di base (Citosina>Timina) direttamente dipendenti dall'effetto mutageno dei raggi ultravioletti (la cosiddetta *UV signature*), che come già chiarito rappresenta il principale fattore di rischio ambientale per lo sviluppo di melanoma. Le mutazioni più comuni incontrate nel melanoma cutaneo interessano geni codificanti per proteine della via di trasmissione del segnale delle *Mitogen Activated Protein Kinases* (MAPK), che regolano la sopravvivenza e la proliferazione cellulare; tali chinasi comprendono RAS, RAF, MEK, ERK [41-42]. Attualmente si utilizzano tecniche di *Next-Generation Sequencing* (NGS) per studiare tali mutazioni all'interno del campione istologico e si classificano tre principali sottotipi molecolari: casi con mutazioni attivanti il gene BRAF,

casi con mutazioni attivanti i geni RAS e casi che non presentano mutazioni né in BRAF né in RAS, ma spesso presentano mutazioni inattivanti del gene NF1, che determinano l'attivazione funzionale di RAS; le mutazioni di NF1 sono presenti, ancorché in minor frequenza, anche negli altri due sottogruppi, a differenza delle mutazioni di BRAF e NRAS che sono in genere mutualmente esclusive (coesistono in meno del 3% dei casi) [43-44].

La mutazione di BRAF è presente 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 nello 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 la più prevalente) [45].

La ricerca dello stato mutazionale di BRAF ha assunto particolare importanza negli ultimi anni, da quando esistono delle terapie a bersaglio molecolare che colpiscono in maniera specifica la chinasi che presenta mutazione attivante. I principali farmaci appartenenti a tale categoria sono Dabrafenib [46-47-48-49], Vemurafenib [49-50] ed Encorafenib [52-53-54], che vengono utilizzati nel melanoma avanzato (di stadio III o IV) come protocolli di terapia adiuvante, ovvero somministrati in seguito all'intervento chirurgico.

1.2 TERAPIA

1.2.1 TERAPIA CHIRURGICA: ESCISSIONE PRIMARIA, ALLARGAMENTO E BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA

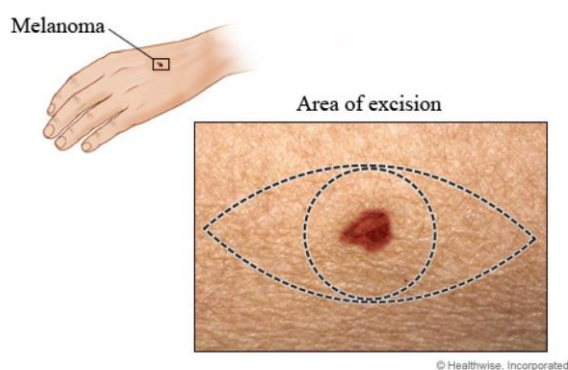
Escissione primaria

La radicalità dell'escissione tumorale costituisce un dogma della chirurgia oncologica. È ampiamente dimostrato per la maggior parte delle neoplasie che una rimozione chirurgica totale, con ampi margini circostanti e che idealmente non lasci cellule tumorali nel tessuto sano, determini un significativo miglioramento della qualità e della quantità di vita del paziente. Attualmente, la terapia chirurgica del melanoma è strutturata secondo un algoritmo; l'approccio iniziale e possibilmente unico (qualora l'esame istologico riveli un tumore di grado pT1a) prevede la rimozione chirurgica della lesione primitiva tramite un'exeresi del tumore primitivo definita *wide excision*, con margini di 5 mm. In profondità, la

radicalizzazione deve essere estesa fino allo strato profondo del tessuto sottocutaneo, arrivando a esporre la fascia muscolare [55-56].

In seguito all'asportazione, la losanga di tessuto viene sottoposta all'esame istologico, nel corso del quale vengono descritte le caratteristiche elencate in precedenza; nello specifico, viene misurato lo spessore di Breslow e determinata la presenza di ulcerazione, che insieme orientano le procedure successive.

Figura 1.3 - Tecnica della wide excision



Alla luce dell'esame istologico, i pazienti si possono suddividere in due categorie principali: la prima categoria ha una classificazione di pT1a cN0 cM0 (indice di Breslow <0.8 mm e lesione non ulcerata, assenza di metastasi linfonodali e a distanza rilevabili clinicamente o tramite imaging). Per tali pazienti la terapia si ferma alla *wide excision*, in quanto si ritiene improbabile che il tumore superficiale abbia dato disseminazione a distanza. Questo gruppo di pazienti verrà sottoposto unicamente a follow-up clinico.

Per i pazienti che invece presentano un grado uguale o superiore a pT1b cN0 cM0 (indice di Breslow <0.8 mm e ulcerazione presente oppure Breslow ≥ 0.8 mm indipendentemente dalla presenza di ulcerazione, sempre in assenza di metastasi rilevabili clinicamente o tramite imaging) è ragionevole sospettare che il tumore possa aver dato disseminazione a distanza, a partire dalle stazioni linfonodali più vicine. Pertanto, viene di norma eseguito l'allargamento dell'escissione primaria e la biopsia del linfonodo sentinella. [57-58]

Come precedentemente riportato, inoltre, i pazienti con melanoma pT1a e regressione tumorale stimata > 75% vengono comunque avviati a biopsia del linfonodo sentinella in ragione della mancata visualizzazione dei fattori prognostici e predittivi del tumore primario.

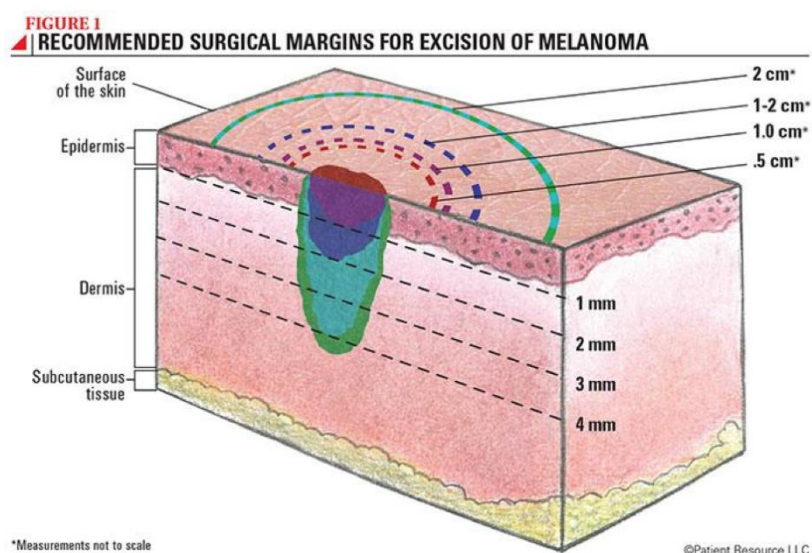
Allargamento dell'escissione primaria

L'allargamento dell'escissione primaria consiste in una revisione del primo intervento chirurgico in cui viene asportata una seconda losanga di tessuto, comprendente la cicatrice dell'escissione primaria e una regione di cute macroscopicamente indenne di area proporzionale all'indice di Breslow del tumore primitivo. La distanza da misurare rispetto alla cicatrice del primo intervento viene calcolata sulla base del risultato dell'esame istologico, come segue:

- pT1b (Breslow <1 mm) → allargamento di 0.5 cm
- pT2 a-b (Breslow <2 mm) → allargamento di 1 cm
- pT3-4 a-b (Breslow >2 mm) → allargamento di 2 cm

Resezioni più ampie, un tempo considerate pratiche standard, oggi non vengono più effettuate in quanto è stato dimostrato che non determinano né una diminuzione della mortalità né un miglioramento della qualità di vita [59-60-61]. Per contro, è possibile talvolta effettuare resezioni con margini minori quando la lesione primitiva si trova in sedi particolari (volto o estremità acrali), in cui per motivi funzionali o estetici l'allargamento standard risulterebbe di difficile esecuzione o di risultato insoddisfacente.

Figura 1.4 - Margini chirurgici raccomandati per melanoma



Biopsia del linfonodo sentinella

La biopsia del linfonodo sentinella si basa sul principio, noto già dalla fine del XVIII secolo, della progressione sequenziale del melanoma [62].

Il melanoma è un tumore a elevato linfotropismo, che tende a dare precocemente metastasi linfonodali; la progressione del tumore lungo il sistema linfatico segue un pattern sequenziale, dal sito primario ai linfonodi loco-regionali, e successivamente ai siti a distanza [63]. Secondo tale principio, è ragionevole dedurre che la rimozione precoce della prima stazione linfonodale coinvolta dalla malattia potrebbe interrompere la diffusione sistemica della stessa; motivo per cui inizialmente era stata combinata alla resezione del tumore primitivo anche la rimozione di linfonodi tramite linfadenectomia della prima stazione linfonodale (*Complete Regional Lymph Node Dissection* - CRLND).

La CRLND veniva effettuata anche in assenza di metastasi linfonodali macroscopicamente evidenti. In seguito, visto l'alto tasso di complicanze (tra cui infezione della ferita, linfedema cronico, lesione delle fibre nervose e complicanze dovute all'anestesia), che riguardavano l'80% dei pazienti operati, e il ridotto beneficio (la sopravvivenza non aumenta significativamente eseguendo la dissezione contestualmente all'allargamento rispetto a un secondo tempo) si è sviluppato un secondo approccio: la biopsia del linfonodo sentinella (BLS o *Sentinel Lymph Node Biopsy* - SLNB) [64-65].

La BLS è una procedura meno invasiva che consente, in luogo dell'asportazione di tutti i linfonodi loco-regionali situati nella prima stazione linfonodale a valle della lesione tumorale, di effettuare un'asportazione parziale, che interessa cioè soltanto i singoli linfonodi drenanti la regione interessata dal tumore.

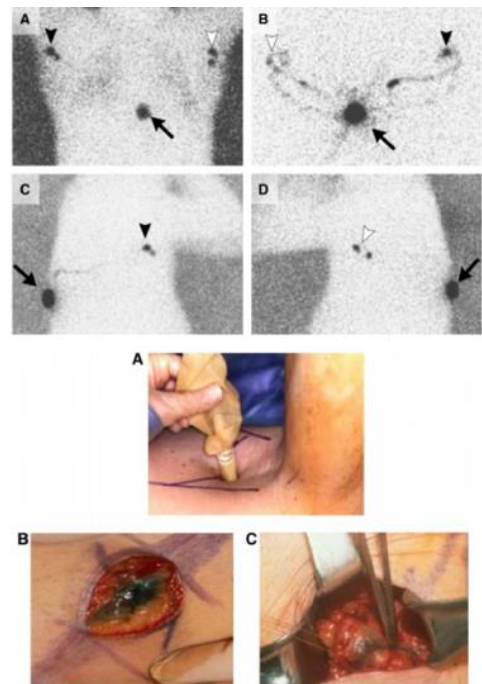
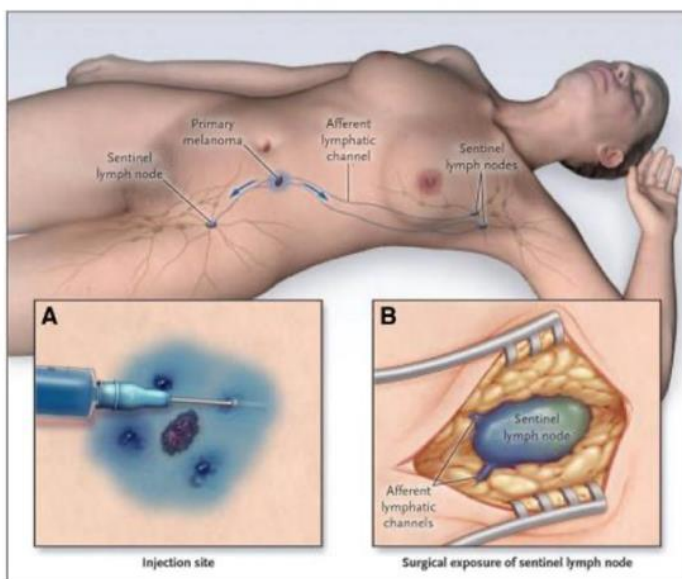
L'individuazione di tali linfonodi è permessa dalla linfoscintigrafia preoperatoria; una procedura che prevede l'iniezione intradermica nel sito di escissione chirurgica primitiva di un tracciante marcato (in Europa il più utilizzato è il nanocolloide con microaggregati di albumina marcato con Tecnezio 99, mentre negli USA si utilizza Tc99m-solfuro colloidale) e colorato (con Isosolfato Blu) che viene drenato insieme alla linfa secondo il normale percorso dalla cute al primo o primi linfonodi della stazione linfonodale. Il Tc99 emette radiazioni gamma ed è grazie alla sua presenza che si riesce a osservare la migrazione della linfa [66-67-68].

In sede di intervento, poi, utilizzando una sonda rilevante la presenza del tracciante radioattivo e la conferma ottica fornita dal colorante blu, il chirurgo asporta solo i linfonodi che drenano effettivamente la zona dove era presente il tumore.

Infine, tali linfonodi vengono analizzati istologicamente per ricercare la presenza di cellule melanocitarie tumorali. Se presenti, è importante indicare la sede, il numero e le dimensioni dei depositi metastatici. In accordo con le ultime linee guida AIOM del 2023, anche nei pazienti con BLS istologicamente positiva per cellule metastatiche la CRLND di completamento non viene più considerata una buona opzione di prima linea [69-70]; è invece indicata con forte raccomandazione a favore l'esecuzione di terapia adiuvante.

La tecnica del linfonodo sentinella, descritta inizialmente da Morton et al. [71], viene oggi utilizzata anche in altri tumori quali quelli mammari e ginecologici.

Figura 1.5 – Tecnica della biopsia del linfonodo sentinella (BLS)



1.2.2 TERAPIA ADIUVANTE

Storicamente, il trattamento del melanoma metastatico non operabile era prevalentemente di natura palliativa, a causa della limitata efficacia delle terapie sistemiche tradizionali in questo tipo di tumore [72].

A causa del danno al DNA indotto dai raggi UV, il melanoma è un tumore caratterizzato da un elevato carico mutazionale, il che determina la presenza di numerosi neoantigeni tumorali. Data l'elevata immunogenicità del melanoma, le terapie adiuvanti proposte si sono da sempre incentrate sulla stimolazione del sistema immunitario: in questi termini, il primo tentativo fu fatto tramite l'inoculazione sottocutanea del Bacillo di Calmette-Guérin (BCG) dopo l'intervento chirurgico di resezione. Successivamente, le ricerche si sono concentrate sulla terapia con Interferon (IFN), che è stata studiata in diversi protocolli, formulazioni e dosaggi, ma infine abbandonata a causa della ridotta efficacia [73-74-75].

Altri tentativi sono stati fatti con gli inibitori dell'angiogenesi (VEGFi), vaccini antitumorali e interleuchina 2 (IL-2).

La vera e propria svolta nella terapia adiuvante del melanoma si è verificata però a partire dal 2011, con l'approvazione pressoché simultanea da parte della statunitense Food and Drugs Administration (FDA) e della European Medicines Agency (EMA) di due nuove classi di farmaci: da un lato gli inibitori del checkpoint immunitario (anticorpi monoclonali diretti contro recettori che inattivano i linfociti T), che stimolano la risposta immunitaria nei confronti del tumore, dall'altro gli inibitori a bersaglio molecolare (inibitori di BRAF e MEK) che bloccano selettivamente alcuni passaggi del principale pathway mutazionale del melanoma, quello delle MAPK.

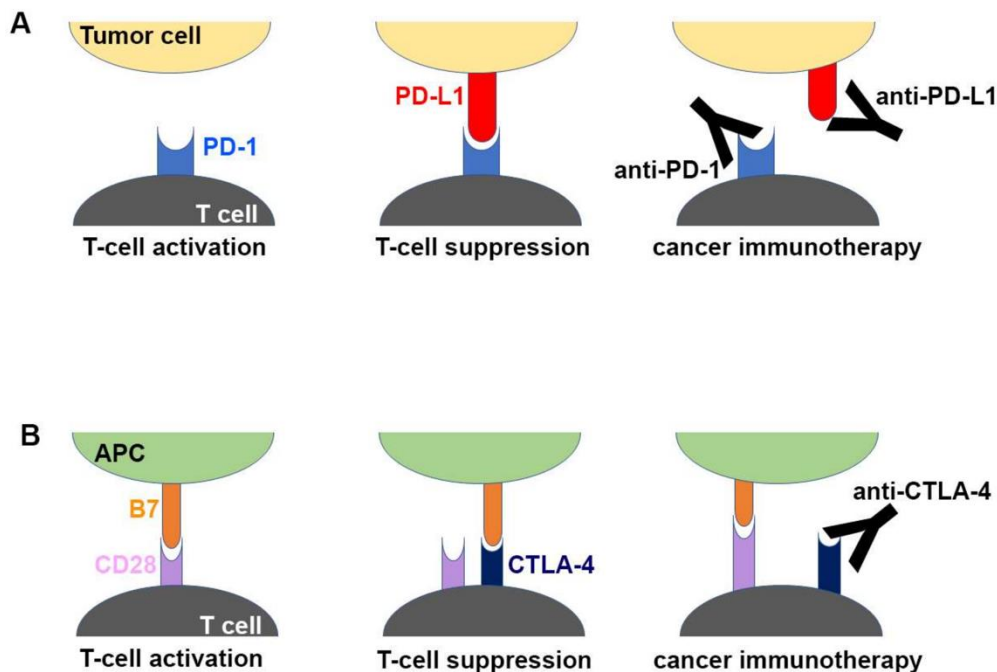
Tali farmaci sono stati studiati prima in monoterapia e in seguito come combinazioni, e sono stati approvati inizialmente per il trattamento del melanoma non resecabile di stadio III e per pazienti metastatici di stadio IV [48].

È importante sottolineare che, quando possibile, i pazienti affetti da melanoma metastatico non responsivi alle terapie standard dovrebbero essere considerati per la partecipazione a studi clinici.

Immunoterapia

L'introduzione dei farmaci inibitori dei checkpoint immunologici ha rappresentato una pietra miliare nella terapia adiuvante del melanoma. Il funzionamento di tali farmaci si basa sulla comprensione dei meccanismi di controllo della risposta immunitaria fisiologica: i linfociti T, dopo l'interazione attivante la risposta immunitaria con cellule presentanti l'antigene o cellule tumorali, sovraesprimono dei recettori cosiddetti inibitori o checkpoint quali CTLA-4 (*Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4*) e PD-1 (*Programmed Death 1*). Il legame tra tali recettori e i rispettivi ligandi (B7 per CTLA-4 e PDL-1 per PD-1) determina uno stimolo inibitorio sulle cellule T che consente, in condizioni fisiologiche, una corretta regolazione della risposta immunitaria; tuttavia nei pazienti affetti da cancro questa inibizione porta a cellule T "exhausted", ovvero che presentano limitato potenziale proliferativo, limitata produzione di citochine e ridotta citotossicità, determinando quindi nel complesso una ridotta risposta del sistema immunitario nei confronti del tumore. Il rationale della terapia con farmaci inibitori del checkpoint consiste quindi nella rimozione del suddetto blocco sul sistema immunitario, che determina una migliore funzionalità dei linfociti T nell'eradicazione delle cellule tumorali [27].

Figura 1.6 - Meccanismo di funzionamento dei farmaci anti-PD-1, anti-PDL-1 e anti-CTLA4



Il primo di questi farmaci ad essere disponibile nell'utilizzo clinico è stato Ipilimumab (Yervoy®), un anticorpo monoclonale diretto contro il recettore CTLA-4. Questo farmaco agisce bloccando il segnale inibitorio generato dal legame tra CTLA-4 e il suo ligando B7 (CD86), permettendo così un potenziamento dell'attività antitumorale dei linfociti T. Studi clinici hanno dimostrato che Ipilimumab può prolungare significativamente la sopravvivenza dei pazienti con melanoma metastatico [76-77-78].

Una terapia completa consiste in quattro infusioni endovenose di 3 mg/kg somministrato ogni 3 settimane.

È interessante notare che la risposta al trattamento con Ipilimumab possa presentare un aumento iniziale del carico tumorale seguito da una successiva riduzione. Di conseguenza, sono stati sviluppati specifici criteri, denominati *Immune-related Response Criteria (IrRC)*, per valutare l'attività antitumorale dell'immunoterapia [79].

Ipilimumab, per quanto associato con un aumento della sopravvivenza, presentava tuttavia numerosi effetti collaterali, che sono stati in parte ridotti dall'avvento dei farmaci anti PD-1, come Pembrolizumab (Keytruda®) [80-81-82] e Nivolumab (Opdivo®) [83].

PD-1 è un recettore checkpoint che può essere espresso dalle cellule T in seguito alla loro attivazione cronica; PDL-1, il suo ligando, può essere espresso dalle cellule tumorali proteggendole dalla risposta immunitaria. Il blocco dell'asse PD-1/PDL-1 mediante anticorpi monoclonali anti-PD-1 (Nivolumab, Pembrolizumab, Cemiplimab, Dostarlimab) o anti-PDL-1 (Durvalumab, Atezolizumab e Avelumab) ha mostrato un sostanziale miglioramento della sopravvivenza e del tasso di recidiva in diversi tumori oltre al melanoma avanzato (carcinoma del polmone, rene, vescica, distretto testa collo e linfoma di Hodgkin) e al contempo presenta tossicità minore rispetto alla terapia con Ipilimumab.

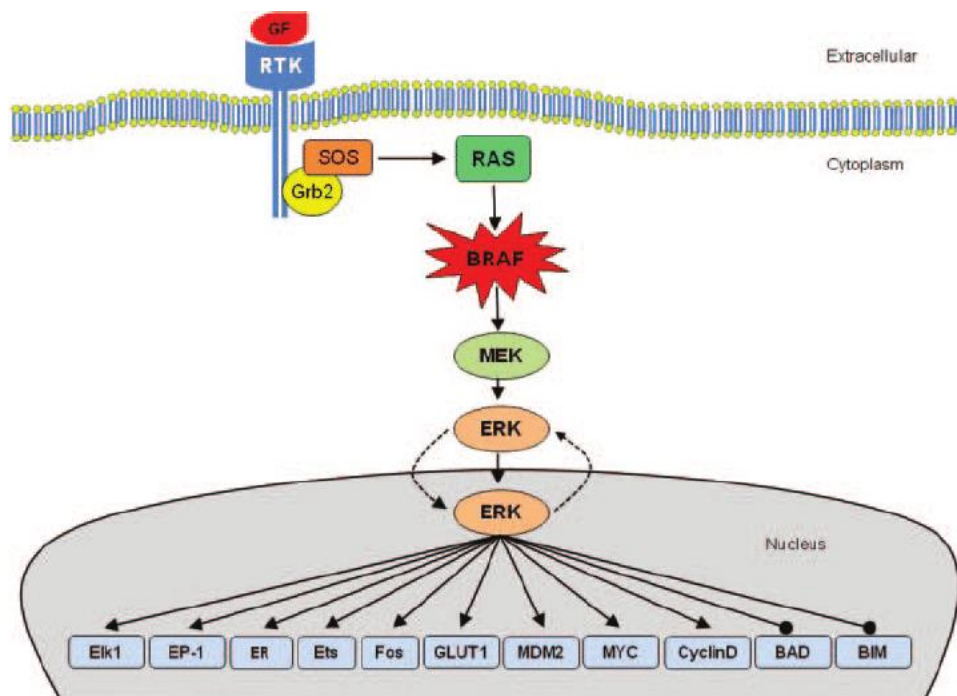
Ulteriori evidenze mostrano che la terapia di combinazione con Ipilimumab e Nivolumab, che blocca entrambe le vie inibitorie, ottiene un effetto antitumorale paragonabile alla monoterapia con Nivolumab, e un maggior numero di effetti collaterali, pertanto non è consigliabile [84].

Per i motivi sopra elencati, la terapia con inibitori di PD-1 quali Nivolumab e Pembrolizumab rappresenta per molti pazienti affetti da melanoma avanzato il trattamento adiuvante di scelta.

Terapia a bersaglio molecolare

Le terapie a bersaglio molecolare agiscono in modo specifico sulla via di trasduzione del segnale RAS-RAF-MEK-ERK, che trasmette segnali di sopravvivenza e proliferazione. Questo pathway risulta spesso costitutivamente attivato nelle cellule di melanoma, determinando quindi immortalizzazione e iperproliferazione della cellula tumorale. La possibilità di andare a colpire in maniera mirata le MAPK mutate consente di agire quasi esclusivamente sulle cellule tumorali, risparmiando le cellule normali, a differenza di quanto avviene con la chemioterapia che colpisce indistintamente le cellule [27].

Figura 1.7 - Principali pathway mutazionali coinvolti nel melanoma



L'efficacia delle terapie a bersaglio molecolare è vincolata all'identificazione di specifici marcatori diagnostici (mutazioni di BRAF rilevate tramite NGS) presenti nelle cellule tumorali, che a loro volta sono legati alla presenza di bersagli molecolari nel tumore. In assenza di tali marcatori, il paziente viene indirizzato verso altre terapie più adatte allo specifico caso, come l'immunoterapia.

Come già menzionato, nel melanoma le mutazioni più comuni e rilevanti riguardano il gene BRAF, riscontrate in circa la metà dei casi di melanoma; la presenza di BRAF mutato rende i pazienti idonei alla terapia a bersaglio molecolare. La mutazione più comune è V600E, che infatti costituisce il target della terapia adiuvante con farmaci a bersaglio molecolare. Tali farmaci infatti contrastano l'attivazione costitutiva e oncogenica di BRAF, che induce nel tumore una stimolazione continua e incontrollata dei segnali di sopravvivenza e proliferazione cellulare.

I primi farmaci di questa categoria sono stati Vemurafenib (Zelboraf®) [85] e Dabrafenib (Tafinlar®) [86], ma la monoterapia con questi inibitori induceva nelle cellule tumorali un rapido adattamento, portando alla sovraespressione di MEK. Pertanto, ora si predilige una

terapia di combinazione che preveda sin da subito la somministrazione contemporanea di un BRAF e un MEK inibitore, il che permette di migliorare l'efficacia e ridurre gli effetti collaterali [47-87-88].

Attualmente, in Italia sono disponibili tre combinazioni di farmaci che includono inibitori del gene BRAF e inibitori del gene MEK, e che somministrati insieme hanno dimostrato di ritardare lo sviluppo di resistenza alle terapie molecolari e causare minori effetti collaterali nei pazienti:

- Vemurafenib (Zelboraf®, inibitore BRAF) + Cobimetinib (Cotellic®, inibitore MEK);
- Dabrafenib (Tafinlar®, inibitore BRAF) + Trametinib (Mekinist®, inibitore MEK);
- Encorafenib (Braftovi®, inibitore BRAF) + Binimetinib (Mektovi®, inibitore MEK).

È stato ampiamente dimostrato che l'associazione di farmaci inibitori del gene BRAF con quelli inibitori del gene MEK migliora la sopravvivenza globale [89] e libera da recidiva [90], aumentando in generale il controllo di malattia e portando a un minor numero di effetti collaterali cutanei. L'utilizzo combinato di questi farmaci sembra ritardare inoltre lo sviluppo di resistenza alle terapie molecolari nelle cellule tumorali [91-92]

In una piccola percentuale di melanomi, soprattutto quelli localizzati a mucose, mani e piedi o volto, sono presenti mutazioni nel gene c-KIT che possono a loro volta beneficiare del trattamento con farmaci a bersaglio molecolare come Imatinib (Glivec®) o Nilotinib (Tasigna®).

Il limite principale delle terapie a bersaglio molecolare è costituito dallo sviluppo di resistenze, soprattutto tramite riattivazione del pathway delle MAPK. I pazienti che sviluppano resistenza sono candidabili a immunoterapia o all'arruolamento in studi clinici. Gli effetti collaterali della target therapy differiscono da quelli che si verificano a seguito di immunoterapia o chemioterapia.

Efficacia e sicurezza

È stata analizzata in diversi studi la risposta del melanoma alla terapia adiuvante, sia eseguita con farmaci inibitori del checkpoint (anti CTLA-4 come Ipilimumab o anti PD-1 come Nivolumab), sia con terapie a bersaglio molecolare (BRAF e MEK inibitori come Vemurafenib + Cobimetinib). Dall'analisi statistica sono emersi risultati fortemente a favore della terapia adiuvante, in quanto i pazienti trattati con la stessa hanno mostrato un prolungamento dei tempi sia di sopravvivenza globale (*Overall Survival, OS*) sia di sopravvivenza libera da malattia, progressione o recidiva (*Disease, Progression o Relapse Free Survival*, rispettivamente *DFS, PFS* o *RFS*).

Di seguito si riportano alcuni degli studi in questione e i relativi risultati.

Per testare l'efficacia e l'utilità dell'immunoterapia adiuvante rispetto al placebo sono stati condotti due studi: nel primo studio randomizzato di fase III EORTC 1325/Keynote-54 [80-81-82], sono stati arruolati pazienti in stadio IIIA (con metastasi linfonodali >1 mm), IIIB e IIIC secondo AJCC 7a. L'endpoint primario era la sopravvivenza libera da recidiva (RFS) nella popolazione ITT e nel sottogruppo PD-L1 positivo (CPS >1%). I pazienti, dopo exeresi chirurgica, sono stati randomizzati per ricevere Pembrolizumab 200 mg ogni 21 giorni per 18 dosi o un placebo. Lo studio, in doppio cieco, ha arruolato 1019 pazienti. Un'analisi intermedia è stata condotta dopo 351 eventi. Con un follow-up mediano di 4,9 anni, la RFS a 5 anni era del 55,4% nel gruppo Pembrolizumab contro il 38,3% nel gruppo placebo (HR: 0,61; IC95%: 0,51-0,72). Nel sottogruppo PD-L1 positivo (n=853), la RFS a 5 anni era del 56,2% contro il 40,0% nel gruppo placebo. Il trattamento si è dimostrato efficace anche nel sottogruppo PD-L1 negativo. La sopravvivenza libera da metastasi a distanza (DMFS) a 5 anni era del 60,6% nel gruppo Pembrolizumab contro il 40,5% nel gruppo placebo (HR: 0,62; IC95%: 0,52-0,75). Gli eventi avversi di grado 3-5 erano del 14,5% nel gruppo Pembrolizumab contro il 3,4% nel gruppo placebo, con un decesso nel gruppo Pembrolizumab dovuto a miosite. Il 13% dei pazienti nel gruppo Pembrolizumab ha interrotto il trattamento a causa di eventi avversi. Non sono ancora disponibili dati sulla sopravvivenza globale (OS). Lo studio non presentava bias significativi, ma non includeva pazienti in stadio IV NED.

Nel secondo studio randomizzato di fase II multicentrico IMMUNED [83], sono stati arruolati invece proprio pazienti in stadio IV NED dopo chirurgia. I pazienti sono stati randomizzati per ricevere, in doppio cieco, Nivolumab 1 mg/kg + Ipilimumab 3 mg/kg per 4 dosi seguito da Nivolumab 3 mg/kg ogni 14 giorni, o Nivolumab 3 mg/kg + placebo per 4 dosi seguito da Nivolumab 3 mg/kg, o doppio placebo. Il trattamento è stato continuato per un massimo di 1 anno o fino alla ripresa della malattia o a tossicità inaccettabile. L'endpoint primario era la RFS. Un'analisi intermedia prespecificata è stata pubblicata. Con un follow-up mediano di 28,4 mesi, la mediana di RFS non è stata raggiunta nel gruppo Nivolumab+Ipilimumab, mentre era di 12,6 mesi nel gruppo Nivolumab e 6,5 mesi nel gruppo controllo. A 1 anno e 2 anni, la RFS era del 75% e 70%, del 52% e 42%, e del 32% e 14% rispettivamente nei gruppi Nivolumab+Ipilimumab, Nivolumab e placebo. Il trattamento di combinazione era associato a un HR di 0,23 (IC97,5%: 0,12-0,45; $p < 0,0001$), mentre il trattamento con Nivolumab era associato a un HR di 0,56 (IC97,5%: 0,33-0,94; $p=0,011$) rispetto al gruppo controllo. Eventi avversi di grado 3 o 4 sono stati riportati nel 71% dei pazienti nel gruppo di combinazione e nel 27% dei pazienti nel gruppo Nivolumab. Il 62% dei pazienti nel gruppo combinazione ha dovuto interrompere precocemente il trattamento per eventi avversi, contro il 13% nel gruppo Nivolumab. Anche questo studio non presenta bias significativi.

Per quanto riguarda l'efficacia e la sicurezza della terapia adiuvante con le terapie a bersaglio molecolare, invece, le evidenze provengono dall'analisi dello studio COMBI-AD [54], uno studio di fase III randomizzato, in doppio cieco. Questo studio ha arruolato 870 pazienti in stadio IIIA (con metastasi linfonodali superiori a 1 mm), IIIB o IIIC (secondo AJCC 7a) e con mutazione BRAF V600E/K. I pazienti sono stati randomizzati per ricevere Dabrafenib 150 mg due volte al giorno + Trametinib 2 mg al giorno per 12 mesi o un placebo, dopo chirurgia radicale. Con un follow-up minimo di 2.5 anni (mediana 2.8 anni), la sopravvivenza libera da recidiva (RFS), endpoint primario dello studio, a 3 anni è stata del 58% nel gruppo di terapia rispetto al 39% nel gruppo placebo. Il rischio di ripresa della malattia è stato ridotto del 53% nel gruppo di terapia rispetto al gruppo di controllo (HR: 0,47; IC95%: 0,39-0,58; $p < 0,001$). La sopravvivenza globale (OS) a 3 anni è stata dell'86% nel gruppo di terapia rispetto al 77% nel gruppo placebo, con un HR di 0,57 (IC95%: 0,42-0,79; $p=0,0006$) a favore del gruppo di trattamento; tuttavia, questo dato non può essere considerato significativo a causa

dei limiti statistici imposti dall'analisi intermedia. L'analisi per sottogruppi non ha mostrato differenze significative. L'aggiornamento dello studio, con un follow-up mediano di 44 mesi per il gruppo di trattamento e di 40 mesi per il gruppo placebo, ha mostrato una RFS a 4 anni del 54% nel gruppo di trattamento rispetto al 38% nel gruppo placebo. La sopravvivenza libera da metastasi a distanza (DMFS) ha mostrato un HR di 0,53 (IC95%: 0,42-0,67). Un'analisi post hoc, condotta ristadiando i pazienti secondo la versione 8a dell'AJCC, non ha mostrato modifiche clinicamente significative nei risultati. Un ulteriore aggiornamento dello studio con un follow-up minimo di 59 mesi ha riportato una RFS a 5 anni del 52% nel gruppo di trattamento rispetto al 36% nel gruppo placebo (HR: 0,51; IC95%: 0,42-0,61). La DMFS come prima sede di ricaduta è stata del 65% nel gruppo di trattamento rispetto al 54% nel gruppo placebo (HR: 0,55; IC95%: 0,44-0,70). I dati di OS non sono stati aggiornati. Il tasso di eventi avversi di grado 3 o 4 è stato del 41% nel gruppo di Dabrafenib+Trametinib rispetto al 14% nel gruppo placebo; il 26% dei pazienti in trattamento con la terapia mirata ha dovuto interrompere il trattamento anticipatamente a causa di eventi avversi.

Attualmente, l'immunoterapia e la terapia mirata ai bersagli molecolari, specialmente nei melanomi con mutazione del gene BRAF, rappresentano nuove prospettive terapeutiche in un contesto clinico estremamente complesso, che richiede ulteriori approfondimenti attraverso la ricerca. In particolare, sono in corso studi volti a valutare l'efficacia della combinazione di queste terapie, la loro sequenza temporale [93] e l'integrazione con altri trattamenti disponibili, come ad esempio la radioterapia [94].

1.2.3 LINFADENECTOMIA

La presenza di metastasi linfonodali clinicamente patologiche, diagnosticata attraverso citologia o biopsia chirurgica, è un evento che correla con lo spessore della lesione primitiva e il numero di mitosi nella regione “hotspot” del tumore e costituisce un fattore prognostico negativo [95].

La CRLND, per quanto non più utilizzata né come primo approccio né nei pazienti che presentano BLS positiva, riveste comunque un ruolo importante sia come opzione terapeutica sia come mezzo per la stadiazione della malattia, orientando eventuali terapie adiuvanti [96].

Tramite CRLND si può infatti ottenere una stadiazione più completa e corretta; in aggiunta il numero di linfonodi metastatici rappresenta elemento prognostico cruciale [96].

La raccomandazione per la dissezione linfonodale completa si verifica quando le metastasi ai linfonodi regionali sono clinicamente evidenti (ovvero rilevate tramite esame obiettivo o esami di imaging quali ecografie o TAC, e successivamente confermate mediante esami citologici o biopsia). In caso di linfonodo clinicamente sospetto per metastasi, è preferibile eseguire esame citologico rispetto alla biopsia chirurgica per preservare le strutture anatomiche in vista della dissezione linfonodale.

Uno studio retrospettivo multicentrico italiano condotto su 2507 pazienti (Rossi et al., PMID: 24356635 DOI: 10.1093/annonc/mdt510) [97] ha analizzato la relazione tra il numero di linfonodi asportati in corso di dissezione chirurgica completa e la prognosi. I risultati di tale studio suggeriscono che, se viene eseguita la linfadenectomia radicale, è consigliabile asportare un numero minimo di 11 linfonodi (i pazienti con almeno 11 linfonodi asportati avevano una sopravvivenza maggiore rispetto a quelli che avevano subito l'asportazione di un numero minore di linfonodi). Oltre alle indicazioni generali, il numero minimo di linfonodi da asportare durante linfadenectomia è stato ulteriormente studiato in maniera differenziata a seconda della sede: si raccomanda l'asportazione in corso di CRLND di almeno 14 linfonodi per la dissezione linfonodale laterocervicale (con almeno 4 livelli), 11 per la dissezione linfonodale ascellare (con almeno 3 livelli), 10 per la dissezione linfonodale inguinale e 12 per quella inguino-iliaco otturatoria.

Il tempo intercorso tra la diagnosi e l'intervento chirurgico definitivo non sembra invece incidere sulla prognosi, almeno per gli stadi AJCC II e III [98-99].

***Capitolo 2* – OBIETTIVI DELLO STUDIO**

L'obiettivo primario del presente studio è la valutazione dell'impatto di due tipi diversi di terapie adiuvanti in una coorte di pazienti affetti da melanoma sottoposti a biopsia del linfonodo sentinella (BLS), con positività di quest'ultima (presenza di cellule tumorali nel linfonodo sentinella).

Le due tipologie di terapie adiuvanti prese in esame sono l'immunoterapia anti-PD-1 (Nivolumab o Pembrolizumab) e la terapia a bersaglio molecolare, tramite BRAF e MEK inibitori (Dabrafenib e Trametinib rispettivamente). Di tali farmaci sono state studiate la sicurezza, l'efficacia e le eventuali differenze nel tempo di recidiva.

I pazienti coinvolti nello studio sono afferiti al reparto di Chirurgia Plastica e Oncologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo tra luglio 2017 e marzo 2024.

Il primo endpoint riguarda la sopravvivenza globale dei pazienti (*Overall Survival, OS*), ovvero l'intervallo di tempo intercorso tra la diagnosi della lesione primitiva e il decesso del paziente o la fine dello studio.

Il secondo endpoint valuta invece la sopravvivenza libera da malattia dei pazienti (*Disease Free Survival, DFS*), che rappresenta l'intervallo di tempo tra la diagnosi della lesione primitiva e la recidiva di malattia (*Relapse Free Survival, RFS*) o la progressione con evidenza di nuove metastasi linfonodali o a distanza (*Progression Free Survival, PFS*).

Lo studio ha inoltre indagato la tollerabilità delle terapie in esame, in particolare riguardo:

- Tipo di effetti collaterali;
- Gravità degli effetti collaterali.

Capitolo 3 - MATERIALI E METODI

I pazienti inclusi nel presente studio presentavano diagnosi istologica di melanoma e avevano eseguito allargamento dei margini di resezione con biopsia del linfonodo sentinella. Ogni paziente ha espresso il consenso informato in merito allo scopo, i metodi e le implicazioni dello studio. Lo studio ha ricevuto l'approvazione del Comitato Etico competente (identificatore della domanda: ASO.Meso.20.06)

3.1 SELEZIONE DEI PAZIENTI

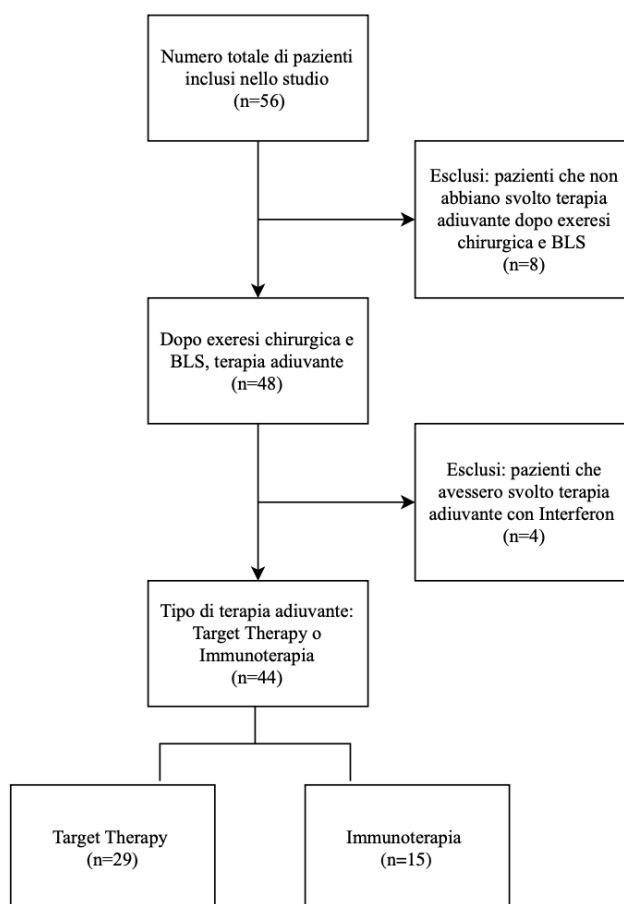
I criteri di inclusione dei pazienti inseriti nello studio sono stati i seguenti:

- Pazienti di età ≥ 18 anni
- Diagnosi di melanoma confermata dall'esame istologico della lesione primitiva
- Biopsia del linfonodo sentinella effettuata ed esito positivo per localizzazioni metastatiche di melanoma
- Firma del Consenso Informato

I criteri di esclusione di questa analisi sono stati:

- Melanoma metastatico alla diagnosi
- Melanoma senza metastatizzazione alla biopsia del linfonodo sentinella o per il quale la biopsia del linfonodo sentinella non è stata eseguita
- Paziente che non acconsente alle procedure di studio
- Diagnosi di melanoma successiva al 01.10.2023

Figura 3.1 - Strobe diagram



3.2 RACCOLTA DATI

I dati relativi ai pazienti inclusi nello studio sono stati anonimizzati e raccolti in un database Redcap (denominato Melabase) accessibile presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria S.S. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria.

Sono stati quindi estratti i dati relativi ai pazienti che avevano eseguito una biopsia del linfonodo sentinella e che avevano positività per localizzazioni metastatiche da melanoma nello stesso.

Per questo studio sono state analizzate diverse variabili suddivise come segue:

1. Dati clinici

- a. Età
 - b. Sesso
 - c. Età al momento della diagnosi
 - d. Familiarità per melanoma
2. Dati relativi alla lesione primitiva:
- a. Data della prima diagnosi
 - b. Sede anatomica della lesione primitiva
 - c. Classificazione T patologica
 - d. Caratteristiche istologiche
 - i. Indice di Breslow
 - ii. Ulcerazione (assente / presente)
 - iii. Regressione (assente / presente<75% / presente>75%)
 - iv. Numero di mitosi
 - v. Invasione linfovaskolare (assente / presente)
 - vi. Invasione perineurale (assente / presente)
 - vii. Infiltrato linfocitario (assente / presente non brisk / presente brisk)
 - viii. Stato mutazionale di BRAF (Wild Type / V600E / V600other)
 - e. Stadio secondo la classificazione AJCC 8^a edizione
3. Dati relativi al linfonodo sentinella
- a. Data della biopsia linfonodale
 - b. Intervallo di tempo trascorso tra la diagnosi di melanoma e la BLS
 - c. Classificazione N patologica
 - d. Numero totale di linfonodi asportati
 - e. Numero di linfonodi positivi tra quelli asportati
 - f. Caratteristiche istologiche del linfonodo asportato
 - i. Numero dei depositi di cellule metastatiche
 - ii. Localizzazione dei depositi di cellule metastatiche (sottocapsulare / intracapsulare / extracapsulare / combinata)
 - iii. Dimensione dei depositi di cellule metastatiche
4. Dati relativi alla conseguente linfadenectomia

- a. Esecuzione della dissezione linfonodale (svolta / non svolta)
 - b. Classificazione N della dissezione
 - i. Numero totale di linfonodi asportati
 - ii. Numero di linfonodi positivi tra quelli asportati
5. Dati relativi alla terapia adiuvante
- a. Esecuzione della terapia adiuvante (svolta / non svolta)
 - b. Tipo di terapia adiuvante (immunoterapia / terapia a bersaglio molecolare / interferon)
 - c. Data di inizio della terapia adiuvante
 - d. Conclusione della terapia adiuvante (conclusa / non conclusa)
 - e. Data di conclusione della terapia adiuvante
 - f. Motivo della conclusione della terapia adiuvante (fine regolare / effetti avversi farmaco-correlati / decesso)
 - g. Tipo di effetti avversi farmaco-correlati registrati
6. Dati relativi alla progressione di malattia
- a. Progressione di malattia registrata (assente / presente)
 - b. Data di progressione di malattia
 - c. Sede della progressione di malattia (tessuti molli / linfonodi a distanza / polmone / fegato / osso / encefalo / linfonodi loco-regionali / altre sedi / sedi multiple)
 - d. DFS (Disease Free Survival)
 - e. OS (Overall Survival).

3.3 ANALISI STATISTICHE

Sono state condotte analisi statistiche descrittive su tutto il campione in studio e separatamente per le due tipologie di terapia adiuvante (immunoterapia e terapia a bersaglio molecolare).

Le variabili categoriche sono state sintetizzate tramite frequenze assolute e relative mentre quelle numeriche tramite media e deviazione standard (DS) o mediana e range interquartile (Q1-Q3), come opportuno.

Le eventuali differenze statisticamente significative tra i due gruppi sono state valutate tramite opportuni test del chi-quadrato o di Fisher e t-test o il corrispettivo non parametrico.

La stima degli eventi avversi, separatamente per le due terapie, è stata calcolata utilizzando le proporzioni e costruendo l'intervallo di confidenza al 95% [95% IC].

L'Overall Survival (OS) è stata calcolata dalla data dell'inizio del trattamento alla morte per ogni causa. I soggetti che sono stati persi al follow-up e che erano vivi all'ultima visita sono stati considerati come censurati.

La Disease Free Survival (DFS) è stata invece calcolata dall'inizio del trattamento al primo evento tra la morte e la recidiva o progressione di malattia. I soggetti che sono stati persi al follow-up e che erano vivi senza recidiva all'ultima visita sono stati considerati come censurati.

Il tempo mediano di OS e DFS è stato calcolato tramite il metodo di Kaplan-Meier (KM), mentre quello mediano di follow-up con il metodo di KM invertito (invertendo cioè evento/censura).

Le differenze tra tempi mediani di OS e DFS, tra i due gruppi sono state valutate utilizzando il test del log rank e riportando i valori dei p-value.

Le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il software SAS 9.4 e R e la soglia di significatività è stata posta a due code dello 0.05.

Capitolo 4 – RISULTATI

4.1 CARATTERISTICHE DEL CAMPIONE

Il campione in studio si compone di 56 soggetti, di cui 44 trattati con terapia adiuvante che pertanto risultano inclusi nell'analisi. Di questi pazienti, 29 (65.91%) erano in trattamento con terapia target con inibitori a bersaglio molecolare mentre 15 (34.09%) con immunoterapia con inibitori del checkpoint immunitario. Il criterio principale di attribuzione dei soggetti a uno dei due gruppi di trattamento dipende dall'analisi dello stato mutazionale di BRAF; ai pazienti che presentavano BRAF *wild type* è stata somministrata immunoterapia, mentre a quasi tutti i pazienti con fenotipo BRAF_{mut} è stata somministrata terapia target. Soltanto un paziente ha ricevuto immunoterapia pur essendo portatore di mutazione di BRAF.

I 12 pazienti esclusi dallo studio sono invece suddivisi come segue: 8 esclusi in quanto non in trattamento con terapia adiuvante, 4 esclusi in quanto trattati con Interferon (tipologia di farmaco ritenuta ormai obsoleta).

I pazienti del nostro studio hanno seguito i protocolli terapeutici riportati di seguito.

Per l'immunoterapia: Nivolumab 3mg/kg somministrato per via endovenosa ogni 2 settimane per 12 mesi o finché il trattamento non fosse più tollerato dal paziente oppure Pembrolizumab 2 mg/kg per via endovenosa ogni 3 settimane, per 12 mesi, progressione della malattia o comparsa di tossicità inaccettabile.

Per quanto riguarda invece la terapia a bersaglio molecolare, esistono tre associazioni di farmaci attualmente distribuite in Italia: la prima, Vemurafenib + Cobimetinib, prevede la somministrazione di Vemurafenib 960 mg, due volte al giorno (dosaggio giornaliero complessivo di 1.920 mg) per via orale. La dose raccomandata di Cobimetinib è 60 mg una volta al giorno, per via orale, somministrata per un ciclo di 28 giorni.

La seconda associazione è costituita da Dabrafenib + Trametinib; la dose raccomandata di Dabrafenib, usato sia in monoterapia che in associazione con Trametinib, è di 150 mg (due capsule da 75 mg) due volte al giorno (corrispondente ad una dose totale giornaliera di 300

mg). La dose raccomandata di Trametinib, quando utilizzato in associazione con Dabrafenib, è 2 mg una volta al giorno.

Infine, la terza combinazione che prevede Encorafenib + Binimetinib viene somministrata in dosi di Encorafenib 450 mg (sei capsule da 75 mg), una volta al giorno; Binimetinib 45 mg (tre compresse da 15 mg) due volte al giorno, corrispondenti a una dose giornaliera totale di 90 mg, per via orale.

I pazienti inseriti in questo studio hanno ricevuto la combinazione Dabrafenib/Trametinib per 12 mesi, come previsto nel setting adiuvante.

Tabella 4.1 - Dati clinici

	TERAPIA TARGET (n=29)	IMMUNOTERAPIA (n=15)	Tutti (n=44)	p-value
Sesso				
Femmina	13 (44.83)	5 (33.33)	18 (40.91)	0.4623
Maschio	16 (55.17)	10 (66.67)	26 (59.09)	
Età, anni				
Media (DS)	59.72 (12.37)	63.48 (13.04)	61.00 (12.58)	0.3532
Mediana (Q1-Q3)	60.99 (52.14-65.34)	64.57 (52.93-76.84)	61.54 (52.27- 68.75)	
Familiarità per melanoma				
Assente	27 (93.10)	15 (100.00)	42 (95.45)	0.5402
Presente	2 (6.90)	0 (0.00)	2 (4.55)	

Il campione era composto prevalentemente da maschi (n=26, 59.1%), e i soggetti avevano un'età media di 61.0 (DS 12.6) anni, con età comprese tra i 31 e gli 86 anni.

Nel gruppo dei soggetti sottoposti a trattamento con anti-PD-1, il numero di maschi è più elevato ma non si osserva una differenza statisticamente significativa (p=0.533) tra i due campioni.

Soltanto una porzione esigua dei pazienti in studio (n=2, 4.55%) presentava familiarità positiva per melanoma.

Tabella 4.2 - Dati relativi alla lesione primitiva

	TERAPIA TARGET (n=29)	IMMUNO TERAPIA (n=15)	Tutti (n=44)	p-value
Sede				
Capo	1 (3.45)	1 (6.67)	2 (4.55)	
Collo	1 (3.45)	0 (0.00)	1 (2.27)	
Tronco	14 (48.28)	8 (53.33)	22 (50.00)	
Arto superiore	6 (20.69)	0 (0.00)	6 (13.64)	
Arto inferiore	7 (24.14)	3 (20.00)	10 (22.73)	
Piede	0 (0.00)	3 (20.00)	3 (6.82)	
Stadiazione TNM – tumore primitivo				
pT1a	0 (0.00)	1 (6.67)	1 (2.27)	
pT1b	2 (6.90)	3 (20.00)	5 (11.36)	
pT2a	2 (6.90)	2 (13.33)	4 (9.09)	
pT2b	4 (13.79)	1 (6.67)	5 (11.36)	
pT3a	1 (3.45)	2 (13.33)	3 (6.82)	
pT3b	12 (41.38)	1 (6.67)	13 (29.55)	
pT4a	0 (0.00)	1 (6.67)	1 (2.27)	
pT4b	8 (27.59)	4 (26.67)	12 (27.27)	
Indice di Breslow				
<1 mm	2 (6.90)	4 (26.67)	6 (13.64)	0.1121 (cat)
1-2 mm	3 (10.34)	2 (13.33)	5 (11.36)	
2-4 mm	15 (51.72)	3 (20.00)	18 (40.91)	
>4 mm	9 (31.03)	6 (40.00)	15 (34.09)	
Indice di Breslow (mm)				
Media (DS)	3.51 (1.99)	3.14 (2.71)	3.38 (2.24)	0.6076 (num)
Mediana (Q1-Q3)	3.00 (2.20-4.70)	2.10 (0.90-4.40)	2.95 (1.95-4.55)	
Ulcerazione				
Assente	5 (17.24)	7 (46.67)	12 (27.27)	0.0378
Presente	24 (82.76)	8 (53.33)	32 (72.73)	
Regressione				
Assente	18 (81.82)	9 (75.00)	27 (79.41)	0.4556
Presente <75%	4 (18.18)	2 (16.67)	6 (17.65)	
Presente >75%	0 (0.00)	1 (8.33)	1 (2.94)	
NA			10	
Mitosi (numero)				
Media (DS)	8.57 (8.07)	7.46 (7.04)	8.22 (7.69)	0.6727
Mediana (Q1-Q3)	5.50 (2.00-12.00)	5.00 (2.00-10.00)	5.00 (2.00-12.00)	

Invasione linfovascolare				
Assente	12 (66.67)	9 (81.82)	21 (72.41)	0.6706
Presente	6 (33.33)	2 (18.18)	8 (27.59)	
NA			15	
Invasione perineurale				
Assente	14 (77.78)	9 (90.00)	23 (82.14)	0.6264
Presente	4 (22.22)	1 (10.00)	5 (17.86)	
NA			16	
Infiltrato linfocitario				
Assente	5 (20.00)	6 (46.15)	11 (28.95)	0.3163
Presente non brisk	12 (48.00)	4 (30.77)	16 (42.11)	
Presente brisk	8 (32.00)	3 (23.08)	11 (28.95)	
NA			6	
Stato mutazionale di BRAF				
Wild type	0 (0.00)	12 (92.31)	12 (28.57)	
V600E	28 (96.55)	1 (7.69)	29 (69.05)	
V600other	1 (3.45)	0 (0.00)	1 (2.38)	
NA			2	
Stadio AJCC8				
IIIA	3 (10.34)	4 (28.57)	7 (16.28)	0.4601
IIIB	7 (24.14)	3 (21.43)	10 (23.26)	
IIIC	16 (55.17)	5 (35.71)	21 (48.84)	
IV	2 (6.90)	2 (14.29)	4 (9.30)	
NA			2	

Nei pazienti presi in esame, le sedi più frequenti della lesione primitiva erano il tronco (n=22, 50.0%), seguite dagli arti inferiori (n=10, 22.7%), arti superiori (n=6, 13.6%), piede 3 (n=3, 6.8%), capo (n=2, 4.6%) e collo (n=1, 2.3%).

Le stadiazioni T relative alla lesione primitiva più frequentemente riscontrate nel campione in esame erano pT3b (n=13, 29.6%) e pT4b (n=12, 27.3%), lo stadio secondo AJCC 8a edizione IIIC (n=21, 48.8%).

L'indice di Breslow medio è risultato di 3.38 mm (DS 2.24), con mediana 2.95 mm (range interquartile Q1-Q3 1.95-4.55).

Gli altri determinanti dell'esame istologico sono risultati come segue (i dati si riferiscono alla sottocategoria risultata più comune): ulcerazione presente nella maggior parte delle lesioni in esame (n=32, 72.7%), regressione assente (n=27, 79.4%), invasione linfovascolare assente

(n=21, 72.4%) e così invasione perineurale (n=23, 82.1%), infiltrato linfocitario presente in forma non brisk nella maggior parte dei campioni biotici (n=16, 42.1%).

Il numero di mitosi per mm² era in media 8.22 (DS 7.69), con mediana 5.00 (Q1-Q3 2.00-12.00).

La mutazione di BRAF era presente nella maggior parte dei pazienti (n=30, 71.4%), e di queste la maggior parte era V600E (n=29, 69.1% del totale e 96.7% delle mutazioni); soltanto un paziente presentava una mutazione differente di V600, V600K (n=1, 2.4% del totale e 3.3% delle mutazioni).

Tabella 4.3 - Dati relativi a linfonodo sentinella e linfadenectomia

	TERAPIA TARGET (n=29)	IMMUNOTERAPIA (n=15)	Tutti (n=44)	p-value
Stadiazione TNM - linfonodi				
pN1	16 (57.14)	11 (73.33)	27 (62.79)	0.4724
pN2	10 (35.71)	4 (26.67)	14 (32.56)	
pN3	2 (7.14)	0 (0.00)	2 (4.65)	
NA			1	
Mesi alla biopsia del linfonodo sentinella				
Media (DS)	2.95 (3.19)	2.50 (1.69)	2.80 (2.76)	0.5502
Mediana (Q1-Q3)	2.49 (2.07-2.89)	2.30 (1.25-3.90)	2.46 (1.77-2.93)	
Numero di linfonodi positivi per metastasi (BLS)				
1	14 (50.00)	9 (60.00)	23 (53.49)	
2	9 (32.14)	5 (33.33)	14 (32.56)	
3	3 (10.71)	0 (0.00)	3 (6.98)	
4	1 (3.57)	1 (6.67)	2 (4.65)	
>4	1 (3.57)	0 (0.00)	1 (2.33)	
NA			1	
Numero di linfonodi totali asportati (BLS)				
1	4 (16.00)	3 (23.08)	7 (18.42)	
2	7 (28.00)	6 (46.15)	13 (34.21)	
3	10 (40.00)	0 (0.00)	10 (26.32)	
4	2 (8.00)	1 (7.69)	3 (7.89)	
5	1 (4.00)	1 (7.69)	2 (5.26)	

6	0 (0.00)	2 (15.38)	2 (5.26)	
9	1 (4.00)	0 (0.00)	1 (2.63)	
NA			6	
Numero di depositi metastatici (BLS)				
1	5 (23.81)	5 (50.00)	10 (32.26)	
2	2 (9.52)	2 (20.00)	4 (12.90)	
3	4 (19.05)	1 (10.00)	5 (16.13)	
4	2 (9.52)	0 (0.00)	2 (6.45)	
5	3 (14.29)	2 (20.00)	5 (16.13)	
7	1 (4.76)	0 (0.00)	1 (3.23)	
20	4 (19.05)	0 (0.00)	4 (12.90)	
NA			13	
Dimensione dei depositi metastatici (mm, BLS)				
Media (DS)	3.42 (3.81)	4.48 (6.59)	3.68 (4.48)	0.6587
Mediana (Q1-Q3)	2.00 (1.20-4.40)	1.00 (1.00-4.00)	2.00 (1.00-4.20)	
Posizione dei depositi metastatici (BLS)				
Sottocapsulare	7 (38.89)	4 (66.67)	11 (45.83)	
Intracapsulare	2 (11.11)	0 (0.00)	2 (8.33)	
Extracapsulare	1 (5.56)	0 (0.00)	1 (4.17)	
Combinata	8 (44.44)	2 (33.33)	10 (41.67)	
NA			20	
Dissezione linfonodale locoregionale				
Non eseguita	26 (89.66)	14 (93.33)	40 (90.91)	>0.999
Eseguita	3 (10.34)	1 (6.67)	4 (9.09)	
pN dissezione (linfadenectomia)				
0	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (50.00)	
4	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (50.00)	
NA			2	
Numero di linfonodi totali asportati (linfadenectomia)				
19	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (50.00)	
24	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (50.00)	
NA			2	

I mesi trascorsi tra la diagnosi di melanoma e la biopsia del linfonodo sentinella sono in media 2.80 (DS 2.76), con una mediana di 2.46 (Q1-Q3 1.77-2.93)

Lo stadio N più rappresentato è risultato pN1 (n=27, 62.8%), con un linfonodo positivo per metastasi (n=23, 53.5%) su un numero totale di linfonodi asportati alla BLS pari a 2 nella maggior parte dei casi (n=13, 34.2%), seguito da 3 (n=10, 26.3%) e 1 (n=7, 18.4%).

All'esame istologico dei linfonodi asportati, la condizione più comune era il riscontro di un solo deposito metastatico (n=10, 32.3%), di dimensione media 3.68 mm (DS 4.48) e mediana 2.00 mm (Q1-Q3 1.00-4.20), mentre la posizione più frequente era sottocapsulare (n=11, 45.8%) seguita in modo ravvicinato da quella combinata, ovvero sottocapsulare e parenchimale (n=10, 41.7%), per quanto è da sottolineare che a tale proposito vi fossero molti dati mancanti (n=20)

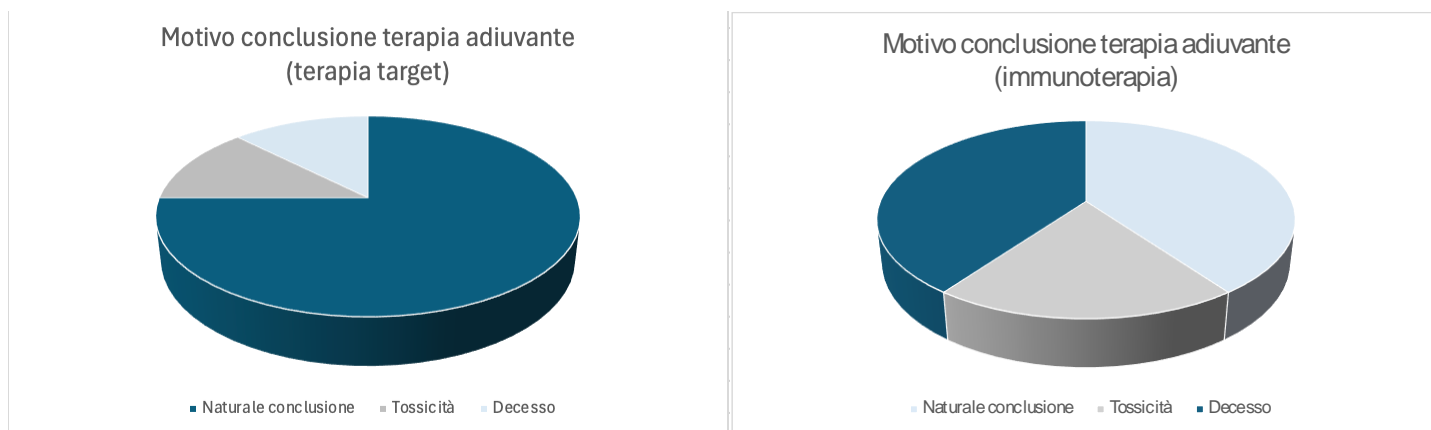
Per quanto riguarda invece la linfadenectomia: della coorte di pazienti in esame nel nostro studio, soltanto quattro pazienti (9.09%) sono andati incontro a linfadenectomia radicale, rispetto ai 40 (90.91%) che non vi si sono sottoposti. Dei due pazienti sottoposti a dissezione linfonodale completa di cui vi siano dati, il primo ha subito l'asportazione di 24 linfonodi di cui 4 risultati positivi e il secondo di 19 linfonodi di cui 0 positivi.

Tabella 4.4 – Dati relativi alla terapia adiuvante

	TERAPIA TARGET (n=29)	IMMUNOTERAPIA (n=15)	Tutti (n=44)	p-value
Terapia adiuvante conclusa				
Conclusa	16 (55.17)	10 (66.67)	26 (59.09)	0.4623
Non conclusa	13 (44.83)	5 (33.33)	18 (40.91)	
Motivo conclusione terapia adiuvante				
Fine regolare	12 (75.00)	4 (40.00)	16 (61.54)	0.1767
Tossicità	2 (12.50)	2 (20.00)	4 (15.38)	
Decesso	2 (12.50)	4 (40.00)	6 (23.08)	

La terapia adiuvante è stata iniziata nei soggetti tra il marzo del 2018 e il gennaio del 2024. Dei 44 soggetti studiati, 18 (40.91%) sono attualmente in terapia mentre 26 (59.09%) hanno concluso la terapia adiuvante. Di questi, la maggior parte (n=16, 61.54%) per fine regolare del percorso terapeutico, mentre due gruppi minori a causa di decesso (n=6, 23.08%) o tossicità della terapia adiuvante tale da portare a sospensione del trattamento (n=4, 15.38%).

Figure 4.1 e 4.2 – Motivi conclusione terapia adiuvante



Nei due gruppi di trattamento, le variabili sono suddivise come segue: terapia adiuvante conclusa per 16 pazienti (55.17%) del gruppo terapia target vs. 10 pazienti (66.67%) del gruppo immunoterapia. Il principale motivo della conclusione risulta la fine regolare in entrambi i gruppi (n=12, 75.00% vs. n=4, 40.00% del gruppo terapia target e immunoterapia rispettivamente), seguito dal decesso (n=2, 12.50% nel gruppo terapia target vs. n=4, 40.00% nel gruppo immunoterapia) e infine da tossicità grave e incompatibile con la prosecuzione della terapia (n=2, 12.50% per terapia target vs. n=2, 20.00% per immunoterapia).

Tabella 4.5 – Dati relativi a eventi avversi della terapia adiuvante

Eventi avversi terapia adiuvante	TERAPIA TARGET (n=29)	IMMUNOTERAPIA (n=15)	Tutti (n=44)
Presenti	8 (27.59%)	5 (33.33%)	13 (29.55%)
Assenti	21 (72.41%)	10 (66.67%)	31 (70.45%)

In generale 13 (29.55%) soggetti hanno avuto almeno un evento avverso: 8/29 (27.59%) nei soggetti sottoposti a terapia target e 5/15 (33.33%) sottoposti a terapia con anti-PD. La prevalenza complessiva degli eventi avversi risulta di: 30.95 [95% CI 17.62; 47.09] mentre considerando i due gruppi separatamente essa risulta 29.63 [95% IC 13.75; 50.18] e 33.33 [95% IC 11.82; 61.62] per target e anti-PD rispettivamente.

Tabella 4.6 – Dati relativi al tipo di eventi avversi della terapia adiuvante

Eventi avversi terapia adiuvante	Frequenza	Percentuale	Frequenza cumulativa	Percentuale cumulativa
Tossicità tiroidea	2	4.55	2	4.55
Tossicità cutanea	2	4.55	4	9.10
Insufficienza surrenalica	2	4.55	6	13.65
Neutropenia	2	4.55	8	18.20
Tossicità epatica	1	2.27	9	20.47
Tossicità cardiaca	2	4.55	11	25.02
Tossicità muscolare	1	2.27	12	27.29
Tromboembolia polmonare	1	2.27	13	29.56
Assenti	31	70.45	44	100.00

L'analisi dei risultati dimostra che 26 (59.09%) soggetti sono attualmente vivi senza progressione di malattia, 7 (15.91%) sono vivi ma con progressione, 1 (2.27%) è deceduto per cause non correlate al melanoma e 10 (22.73%) sono morti dopo progressione di malattia.

4.2 OVERALL SURVIVAL

La sopravvivenza globale o *Overall Survival* (OS) dei pazienti coinvolti nel presente studio è misurata come l'intervallo di tempo intercorso tra la data della diagnosi di melanoma e la data del decesso per qualsiasi causa, misurata in mesi. Per i pazienti vivi al momento della conclusione della raccolta dati (29 marzo 2024), i dati sono stati censurati.

Durante il periodo di follow-up 11 soggetti (25.00%) sono deceduti; di questi uno solo per cause non correlate al melanoma

Il tempo mediano di sopravvivenza è 44.98 [95% CI 29.74; *Not Available* (NA)] mesi, mentre quello medio è complessivamente 34.78 mesi.

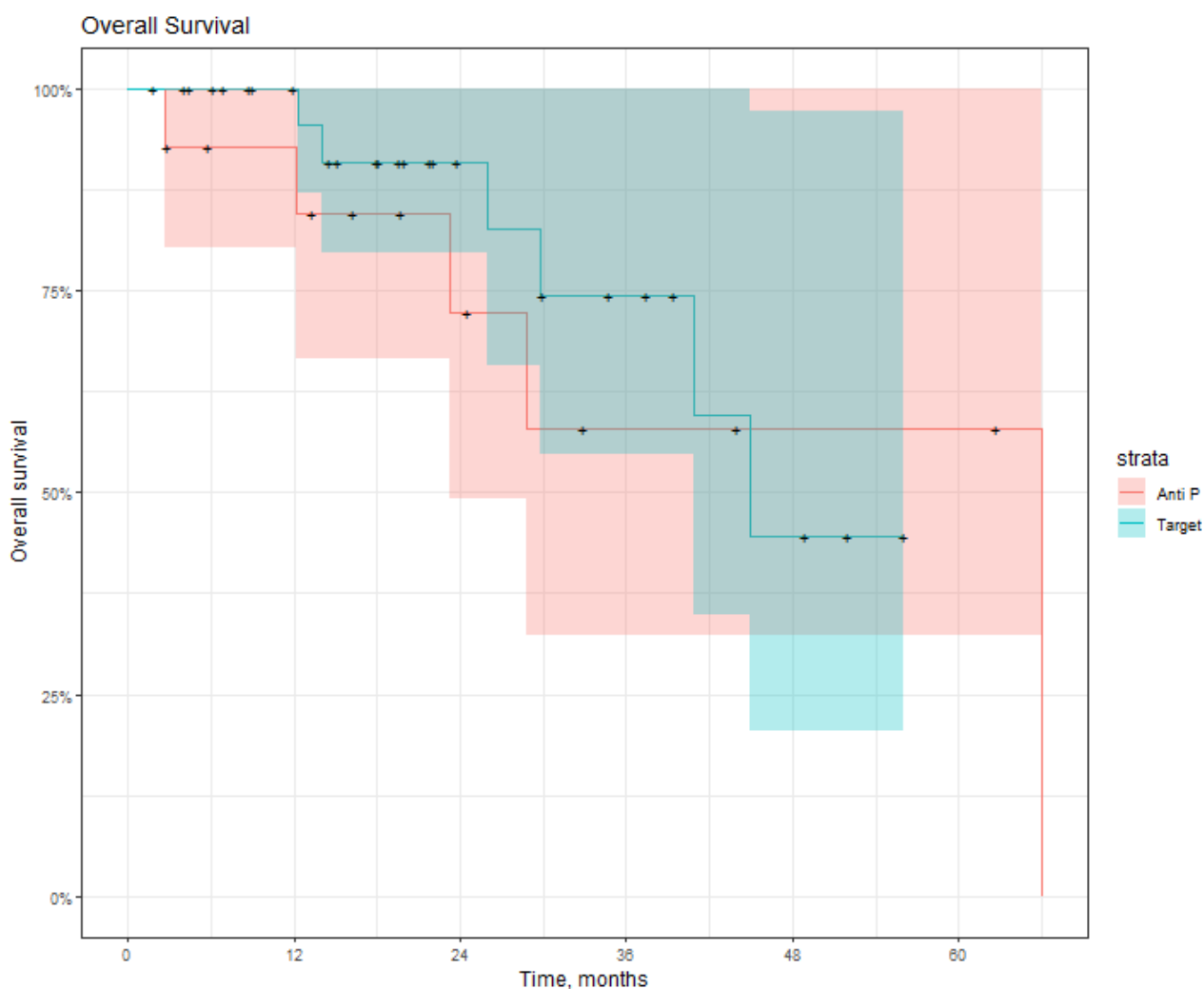
Per quanto riguarda i valori medi di OS nei due insiemi di pazienti, risultano di 34.20 mesi e 28.25 per i gruppi sottoposti a terapia target e immunoterapia, rispettivamente.

Mettendo i due gruppi a confronto, l'OS mediana risulta 66 [95% CI 23.2; NA] mesi nel gruppo della terapia target e 45 [95% CI 40.9; NA] per l'immunoterapia.

L'indicazione NA relativa agli intervalli di confidenza superiori (*upper control limits* o UCLs) è dovuta all'impossibilità di costruire il dato a causa della relativa esiguità del campione in studio.

Il p-value del log-rank test relativo alle OS mediane dei gruppi è 0.627, pertanto non risulta una differenza statisticamente significativa di sopravvivenza globale tra i due gruppi sottoposti a linee di terapia adiuvante differenti.

Figura 4.3 – Overall Survival (OS)



4.3 DISEASE FREE SURVIVAL

La sopravvivenza libera da malattia o *Disease Free Survival* (DFS) rappresenta invece l'intervallo di tempo che intercorre tra la data di diagnosi di malattia e la data di progressione della malattia stessa.

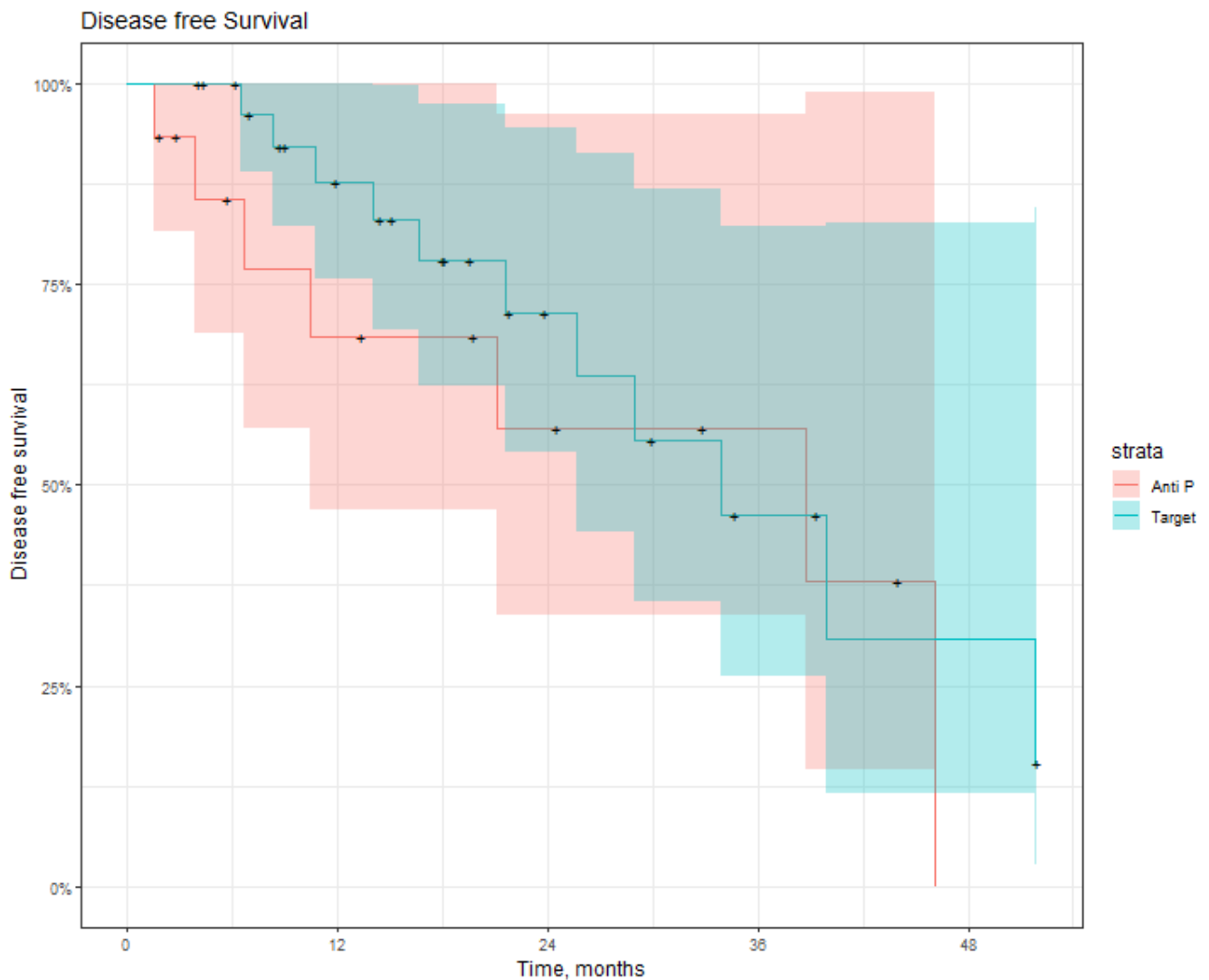
All'interno del campione oggetto di studio, nel corso del periodo di osservazione 18 (40.91%) soggetti sono andati incontro a progressione di malattia o morte.

Per quanto riguarda i valori medi, la DFS media del campione in generale è 26.72 mesi mentre nei due gruppi risulta di 26.75 e 22.69 mesi per terapia target e immunoterapia, rispettivamente.

Il tempo di progressione mediano complessivo è 38.79 [95% CI 21.64; 46.07] mesi, mentre quello del gruppo sottoposto a terapia target risulta 38.80 [95% CI 10.4; NA] mesi e quello del gruppo che ha ricevuto immunoterapia 33.90 [95% CI 25.7; NA] mesi.

Il p-value del test log-rank relativo al confronto di DFS mediana tra i due gruppi in esame è di 0.397, pertanto anche in questo caso non sembra esserci una differenza statisticamente significativa tra la sopravvivenza libera da recidiva tra i due gruppi sottoposti a terapie adiuvanti differenti.

Figura 4.4 – Disease Free Survival (DFS)



Capitolo 5 – DISCUSSIONE

Il melanoma è il più raro ma al tempo stesso più letale tumore della cute. Il suo alto tasso di mortalità, unito all'incidenza in aumento negli ultimi anni e al fatto che possa colpire anche la fascia più giovane della popolazione adulta, fanno sì che la ricerca di terapie efficaci e sicure rappresenti al tempo stesso una sfida e una priorità per i sistemi sanitari di tutto il mondo. Questo discorso assume particolare rilevanza nei Paesi, come l'Italia, che presentano una popolazione di etnia prevalentemente caucasica, più suscettibile allo sviluppo del tumore.

In tale contesto assumono particolare rilevanza le misure preventive; sia per quanto riguarda la prevenzione primaria (riduzione dell'esposizione ai raggi UV, sia naturali che artificiali, e applicazione di filtri solari) sia tramite la prevenzione secondaria (check-up dermatologico, mappatura e controllo dei nevi che possono portare a una diagnosi precoce).

Dal punto di vista terapeutico, ove possibile l'eradicazione chirurgica completa rappresenta sempre la terapia di prima scelta; fortunatamente la localizzazione cutanea del tumore rende la patologia rilevabile usualmente al momento in cui è possibile una completa asportazione chirurgica che porta alla guarigione. In particolare, l'escissione chirurgica primaria rappresenta l'unica terapia richiesta quando il melanoma si trova in stadio pT1a, ovvero presenta uno spessore di Breslow inferiore a 0.8 mm e non presenta ulcerazione.

Nella restante parte dei casi, invece, l'escissione della lesione primitiva viene seguita da un secondo intervento di allargamento dei margini della resezione primitiva sulla base dello spessore di Breslow rilevato all'esame istologico, e dalla biopsia del linfonodo sentinella.

La biopsia del linfonodo sentinella (BLS) è uno strumento di stadiazione che negli ultimi venticinque anni ha sostituito la dissezione linfonodale regionale (CRLND) elettiva nella valutazione della presenza di cellule tumorali all'interno dei linfonodi regionali. Alla luce delle attuali linee guida, vengono sottoposti a tale procedura i pazienti che presentano una stadiazione TNM del tumore primitivo superiore a pT1a (spessore < a 0.8 mm con ulcerazione o > 0.8 mm indipendentemente dalla presenza di ulcerazione). In questo gruppo di pazienti, infatti, i benefici derivanti dall'eventuale identificazione precoce di localizzazioni secondarie

all'interno del materiale linfonodale biopsiato sono superiori agli eventuali rischi derivanti dall'esecuzione della procedura. La positività per metastasi alla BLS rappresenta uno dei principali fattori prognostici per i pazienti affetti da melanoma, e aiuta a individuare il sottogruppo di pazienti ad alto rischio di recidiva o progressione che può essere candidato alla terapia adiuvante [96].

La terapia adiuvante è cambiata radicalmente negli ultimi quindici anni, grazie all'avvento di due nuove classi di farmaci che hanno modificato le prospettive dei pazienti affetti dalle forme avanzate di melanoma in termini di qualità e quantità di vita. Prima della diffusione delle nuove terapie adiuvanti, infatti, il melanoma non operabile o metastatico era un tumore poco rispondente alle terapie sistemiche tradizionali (chemioterapia e radioterapia), che destinava a prognosi infausta il sottogruppo di pazienti affetto da malattia avanzata. Le prospettive terapeutiche, in precedenza scarse e poco efficaci, sono cambiate profondamente con l'avvento di due classi di farmaci: inibitori del checkpoint immunitario e terapie a bersaglio molecolare.

La prima classe di farmaci ad essere sviluppata è stata quella dei farmaci inibitori del checkpoint immunitario, che permettono di contrastare l'inibizione del sistema immunitario che si instaura in contesto tumorale e aumentare la risposta immunitaria del paziente nei confronti del tumore. Il primo farmaco di questa categoria ad essere commercializzato è stato Ipilimumab (Yervoy®), un anticorpo monoclonale anti-CTLA-4 approvato dalla United States Food and Drug Administration nel marzo 2011 e dalla European Medicines Agency nel luglio 2011. In seguito, sono stati sviluppati altri farmaci come Pembrolizumab (Keytruda®) e Nivolumab (Opdivo®), entrambi anticorpi monoclonali anti-PD-1 che hanno dimostrato superiorità in termini di efficacia e di riduzione degli effetti collaterali rispetto a Ipilimumab.

Per quanto riguarda la seconda tipologia di terapia adiuvante, si tratta di farmaci a bersaglio molecolare, che inibiscono in maniera mirata il pathway delle MAPK mutato in senso oncogenico nelle cellule tumorali, in particolare le chinasi BRAF e MEK.

La rilevanza di tali farmaci è evidente quando si considera che la mutazione di BRAF è presente in circa metà dei melanomi cutanei [41-42-43].

L'approvazione delle terapie target per il trattamento del melanoma avanzato è avvenuta quasi in contemporanea a quella degli inibitori del checkpoint, nello specifico per Vemurafenib (Zelboraf®), primo farmaco della categoria dei BRAF-inibitori, che ha ricevuto l'approvazione da parte della United States Food and Drug Administration ad agosto 2011 e nel dicembre dello stesso anno da parte della European Medicines Agency. Altri farmaci con lo stesso meccanismo di azione comprendono Dabrafenib (Tafinlar®) ed Encorafenib (Braftovi®).

La natura mirata di questa classe di farmaci ha due implicazioni principali: la prima, che possono essere somministrati soltanto nei pazienti che presentano la mutazione attivante di BRAF, in particolare le mutazioni in posizioni V600. Per tale motivo, sul pezzo operatorio si fa la ricerca della mutazione di BRAF e, qualora risultasse presente, il paziente diventa candidabile a questo tipo di terapia target. La seconda implicazione clinica è stata che, trattando i pazienti in monoterapia con BRAF-inibitore, si è osservata una iniziale buona risposta clinica seguita dal rapido sviluppo di resistenza al farmaco per mutazione di altre MAPK dello stesso pathway, in particolare MEK. Per tale ragione ad oggi la terapia adiuvante con farmaci a bersaglio molecolare è strutturata sin dal principio come una terapia di combinazione con BRAF e MEK inibitore [87-88].

Esistono tre combinazioni attualmente commercializzate in Italia: Vemurafenib (Zelboraf®, inibitore BRAF) + Cobimetinib (Cotellic®, inibitore MEK); Dabrafenib (Tafinlar®, inibitore BRAF) + Trametinib (Mekinist®, inibitore MEK); Encorafenib (Braftovi®, inibitore BRAF) + Binimetinib (Mektovi®, inibitore MEK).

Sulla base delle attuali linee guida, quando un paziente ha ricevuto conferma della diagnosi di melanoma a seguito dell'esame istologico sul pezzo operatorio dell'exeresi primaria, presenta uno stadio uguale o superiore a pT1b (Breslow <0.8 mm e presenza di ulcerazione o >0,8 mm indipendentemente dall'ulcerazione) e la biopsia del linfonodo sentinella ha dato esito positivo, viene candidato alla somministrazione di una delle due terapie adiuvanti precedentemente menzionate.

Se non vengono riscontrate mutazioni di BRAF, la scelta ricade automaticamente sulla terapia con inibitori del checkpoint; se la mutazione di BRAF è presente, entrambi i percorsi terapeutici sono teoricamente possibili. In assenza di linee guida che definiscano con certezza quale tipologia di farmaco sia da somministrare nel setting adiuvante, la scelta deve essere effettuata considerando le caratteristiche non solo della malattia primitiva ma anche del paziente e le eventuali comorbidità e/o controindicazioni all'assunzione di specifici farmaci. Ambedue i tipi di terapia presentano infatti dei caveat: le terapie target non sono efficaci nel setting adiuvante in circa un terzo dei casi, mentre l'immunoterapia presenta un rischio elevato di effetti collaterali legati all'attivazione del sistema immunitario [100].

Alcuni recenti studi (SECOMBIT, DREAM-SEQ), che potrebbero modificare significativamente l'approccio clinico negli anni a venire, sembrano suggerire che l'immunoterapia sia da prediligere anche nei casi in cui BRAF presenta le mutazioni oggetto della terapia target, in quanto a dispetto dei più severi effetti collaterali l'immunoterapia offrirebbe migliori *outcome* dal punto di vista della sopravvivenza, tanto libera da malattia (*Disease Free Survival* o DFS) quanto complessiva (*Overall Survival* o OS) [101].

Scopo del presente studio è stato valutare, sulla base del campione afferente alla nostra struttura, se vi fossero delle differenze significative in termini di sopravvivenza tra i pazienti che svolgevano le due tipologie di terapia adiuvante, con l'obiettivo di verificare, in una situazione *real life*, i dati derivanti dalla letteratura pubblicata sull'argomento.

La nostra casistica comprendeva un totale 56 pazienti afferiti alla struttura di Chirurgia Plastica e Oncologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria SS Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria. Di questi, sono stati esclusi in totale 12 pazienti; 8 che non avevano svolto terapia adiuvante dopo exeresi chirurgica e biopsia del linfonodo sentinella, e 4 pazienti che, poiché avevano ricevuto la diagnosi di melanoma prima della diffusione delle nuove terapie adiuvanti, avevano svolto terapia adiuvante con Interferon, ormai considerata obsoleta.

Sono quindi risultati inclusi nello studio 44 pazienti totali, in trattamento con una delle due terapie adiuvanti attualmente raccomandate dalle linee guida; di questi, 29 assumevano terapia a bersaglio molecolare e 15 immunoterapia.

La relativa esiguità del campione in studio riflette i dati di prevalenza di melanoma avanzato presenti in letteratura. Alla diagnosi, infatti, l'84% dei pazienti con melanoma ha una malattia allo stadio iniziale (AJCC 8 I-II) e solo il 4% si presenta con metastasi [27]. Tuttavia, molti altri pazienti svilupperanno metastasi dopo la terapia iniziale per la malattia locoregionale.

In questo senso la casistica *real life* è rappresentativa di quella descritta in letteratura.

Il campione considerato all'interno dello studio è costituito prevalentemente da individui di sesso maschile (n=26, 59.1%) rispetto al sesso femminile (n=18, 40.9%) e l'età media, considerata al momento della conclusione dello studio (29 marzo 2024) è di 61.0 anni (DS 12.6). Tale distribuzione riflette quella del melanoma nella popolazione generale. L'età avanzata comporta infatti un maggiore rischio di sviluppo di tumori cutanei per via dell'aumentata esposizione ai raggi ultravioletti. Allo stesso tempo, la maggiore incidenza del melanoma nel sesso maschile non è imputabile solo a fattori genetici (influenza ormonale, in particolare degli estrogeni, stress ossidativo ed espressione genica) ma anch'essa riconducibile direttamente all'esposizione cronica ai raggi UV, che per abitudini di vita (attività lavorativa all'aperto più frequente, minore utilizzo dei filtri solari) è in generale maggiore nei soggetti di sesso maschile [102].

All'interno del nostro campione, nella porzione dei soggetti sottoposti a terapia adiuvante anti-PD-1, il numero di uomini era più elevato (n=10, 66.7%) rispetto al numero di donne (n=5, 33.3%), anche se in seguito all'analisi statistica non si è osservata una differenza statisticamente significativa (p=0.533).

Soltanto due pazienti (4.55%) del campione in oggetto di studio presentavano anamnesi familiare positiva per melanoma, il che sottolinea l'eziologia raramente genetica della patologia, che è prevalentemente associata a fattori di rischio ambientali. Tale percentuale è in linea con i principali dati riportati in letteratura, che la attestano tra il 5 e il 10% [103].

Nei pazienti presi in esame, le sedi più frequenti della lesione primitiva erano il tronco (n=22, 50.0%), seguite dagli arti inferiori (n=10, 22.7%); anche questi dati risultano concordi con quelli presenti dalla letteratura, che indicano una maggiore incidenza della neoplasia in generale nelle zone fotoesposte, soprattutto la parte superiore del dorso in entrambi i sessi e la parte inferiore delle gambe nella popolazione femminile [104].

Per quanto riguarda le caratteristiche istologiche risultanti dall'esame istologico del pezzo operatorio, si è riscontrata una prevalenza maggiore di melanomi di stadio pT3b (n=13, 29.6%) e pT4b (n=12, 27.3%); l'indice di Breslow medio è risultato di 3.38 mm (DS 2.24), con mediana 2.95 mm (range interquartile Q1-Q3 1.95-4.55). Tali dati risultano coerenti con il fatto che tra i criteri di inclusione nel nostro studio vi fosse la positività della biopsia del linfonodo sentinella, che risulta tanto più probabile quanto più elevato è lo stadio della lesione primitiva.

Il numero di mitosi per mm² era in media 8.22 (DS 7.69), con mediana 5.00 (Q1-Q3 2.00-12.00). Tale valore è considerato elevato in quanto superiore al cut-off di 4 mm², e correla con una peggiore prognosi. Può essere spiegato dal fatto che il campione di pazienti preso in esame presenti la patologia in stadio avanzato che ha già dato diffusione metastatica ai linfonodi, quindi è ragionevole che la lesione primaria presenti caratteristiche associate a una peggior prognosi.

Le altre componenti dell'esame istologico sono risultate prevalentemente favorevoli dal punto di vista prognostico; in particolare l'assenza di regressione, invasione linfovaskolare, invasione perineurale e la presenza di infiltrato linfocitario, ancorché in forma non brisk erano più comuni. L'eccezione in questo senso è costituita dai dati relativi all'ulcerazione. La presenza di ulcerazione rappresenta infatti un fattore prognostico negativo, come confermato anche dal nostro studio da cui emerge che la presenza di ulcerazione correla in modo statisticamente significativo (p-value 0.0378) con una peggiore prognosi. Tale dato poteva essere atteso dalle precedenti analisi sullo stadio, da cui risultava più di metà dei pazienti (n=25, 56.9%) alternativamente in stadio pT3b o pT4b, che hanno tra le caratteristiche la presenza di ulcerazione della lesione primitiva.

Lo stadio dei pazienti in studio, in accordo con l'ottava edizione dell'American Joint Committee on Cancer, era per definizione dei criteri di inclusione dello studio uguale o superiore al IIIA, in quanto uno dei criteri era la positività della biopsia del linfonodo sentinella. Dei pazienti in analisi, la maggior parte presentava uno stadio IIIC (n=21, 48.8%).

La mutazione di BRAF era presente nella maggior parte dei pazienti (n=30, 71.4%), di cui la maggior parte V600E (n=29, 69.1% del totale e 96.7% delle mutazioni) e soltanto un paziente con una mutazione differente di V600, V600K (n=1, 2.4% del totale e 3.3% delle mutazioni). Tali dati differiscono da quelli presenti in letteratura, in quanto la prevalenza della mutazione di BRAF nella popolazione generale affetta da melanoma risulta circa il 50% (vs. 71.4% del nostro studio) anche se di queste mutazioni V600E è effettivamente la più comune, attestandosi intorno al 90%. Questa discrepanza tra letteratura e contesto *real life* può essere attribuita alla relativa esiguità del nostro campione.

Al tempo stesso, l'analisi mutazionale di BRAF ha avuto un impatto importante sulla scelta della terapia adiuvante: la presenza nel campione in analisi di una prevalenza di pazienti con BRAF mutato ha inevitabilmente influenzato le analisi successive, in quanto, in un approccio che probabilmente nei prossimi anni verrà quantomeno rivisto se non del tutto sovvertito, ai pazienti che presentavano la mutazione di BRAF è stata somministrata terapia target come adiuvante nella quasi totalità dei casi (n=29 vs 1, 96.7% vs. 3.3%). Come anticipato, non esistono ancora studi di larga portata sui pazienti con mutazione di BRAF per stabilire se sia meglio somministrare immunoterapia o terapia target; tuttavia, alcune iniziali evidenze sembrano mostrare che l'immunoterapia possa mostrare dei vantaggi in termini di sopravvivenza totale (*Overall Survival*, OS) e libera da malattia (*Disease Free Survival*, DFS), per quanto a spese di una minore risposta iniziale, e un minor numero di effetti collaterali.

Per quanto riguarda l'analisi dei dati relativi alla biopsia del linfonodo sentinella, lo stadio TNM più rappresentato del campione in esame è risultato il pN1 (n=27, 62.8%), ovvero la presenza di un linfonodo contenente cellule tumorali, confermata dal fatto che si avesse più frequentemente (n=23, 53.5%) un linfonodo positivo per metastasi. Il numero totale di

linfonodi asportati alla BLS risultava invece prevalentemente 2 (n=13, 34.2%), seguito da 3 (n=10, 26.3%) e 1 (n=7, 18.4%).

All'esame istologico dei linfonodi asportati, la maggior parte dei pazienti presentava un solo deposito metastatico (n=10, 32.3%). La dimensione media dei depositi all'interno del linfonodo biopsiato era di 3.68 mm (DS 4.48) e la mediana di 2.00 mm (Q1-Q3 1.00-4.20), mentre la posizione più frequente era sottocapsulare (n=11, 45.8%) seguita in modo ravvicinato da quella combinata, ovvero sottocapsulare e parenchimale (n=10, 41.7%), per quanto è da sottolineare che a tale proposito vi fossero molti dati mancanti (n=20). In generale, queste caratteristiche di relativa benignità (solo un linfonodo metastatico, solo un deposito per linfonodo, localizzazione sottocapsulare dei depositi) si possono attribuire a un tempo medio trascorso tra la diagnosi di melanoma e la biopsia del linfonodo sentinella relativamente breve, con media di 2.80 mesi (DS 2.76) e mediana di 2.46 mesi (Q1-Q3 1.77-2.93), benché in letteratura vi siano analisi che suggeriscono che tempi ancora più brevi (<30 giorni) possano migliorare in maniera significativa la sopravvivenza dei pazienti [105]

Lo stato linfonodale rimane il fattore prognostico più importante, come già indicato nello studio di Morton et al. del 1991, nello specifico per quanto riguarda il numero dei linfonodi metastatici [96].

Alla luce delle evidenze raccolte negli ultimi venticinque anni e delle ultime linee guida, la biopsia del linfonodo sentinella positiva non implica più l'esecuzione della dissezione linfonodale o linfoadenectomia, che non ha dimostrato di fornire vantaggi in termini di sopravvivenza (né OS né DFS), causando invece un notevole numero di effetti collaterali (primo tra tutti il linfoedema) gravemente pregiudicanti la qualità della vita dei pazienti. Basandosi sulle linee guida, l'esecuzione di dissezione linfonodale completa è condizionata a sfavore ad eccezione dei pazienti che presentino metastasi al linfonodo sentinella clinicamente evidenti (rilevate tramite esame obiettivo/ecografia/TAC, confermate da prelievo istologico o citologico).

Per questo motivo, della coorte di pazienti in esame nel nostro studio, soltanto quattro pazienti (9.09%) sono andati incontro a linfoadenectomia radicale, rispetto ai 40 (90.91%) che non vi si sono sottoposti. È inoltre importante riportare che nessuno dei pazienti che è andato

incontro alla dissezione radicale è stato operato all'interno dell'AOU di Alessandria; anche per questo è stato possibile ricevere i dati relativi alla dissezione soltanto di due dei quattro pazienti in questione. Uno dei due si è sottoposto all'asportazione di 24 linfonodi, di cui 4 sono risultati positivi per cellule tumorali; il secondo ha subito un'exeresi di 19 linfonodi totali, di cui 0 positivi. Tali valori, per quanto non rappresentativi per via dell'estrema esiguità del campione, sono superiori al numero di linfonodi di cui si raccomanda l'asportazione nelle linee guida, che sono i seguenti: 14 linfonodi per la dissezione linfonodale laterocervicale (≥ 4 livelli), 11 per la dissezione linfonodale ascellare (3 livelli), 10 per la dissezione linfonodale inguinale e 12 per quella inguino-iliaco otturatoria [97].

Trattandosi solo di due pazienti, tuttavia, qualsiasi tipo di valutazione risulta più rappresentativo della singola storia clinica che dell'approccio terapeutico raccomandabile per il melanoma avanzato.

Infine, oggetto del nostro studio è stata l'analisi dell'efficacia e della sicurezza della terapia adiuvante proposta, e il confronto tra i due principali tipi di farmaci (immunoterapia con inibitori del checkpoint immunitario vs. terapia target con farmaci a bersaglio molecolare). Le terapie adiuvanti sono state iniziate dai pazienti del nostro studio tra il marzo del 2018 e il gennaio del 2024; dei 44 soggetti che costituiscono il campione, 18 (40.91%) sono attualmente in terapia, mentre 26 (59.09%) hanno concluso la terapia adiuvante. Di questi, la maggior parte (n=16, 61.54%) per fine regolare del percorso terapeutico, mentre due gruppi minori a causa di decesso (n=6, 23.08%) o tossicità della terapia adiuvante tale da portare a sospensione del trattamento (n=4, 15.38%).

Mettendo a confronto i due gruppi di trattamento, risulta che la terapia adiuvante sia conclusa per 16 pazienti (55.17%) del gruppo terapia target vs. 10 pazienti (66.67%) del gruppo immunoterapia. Il principale motivo della conclusione è la fine regolare del percorso terapeutico in entrambi i gruppi (n=12, 75.00% vs. n=4, 40.00% del gruppo terapia target e immunoterapia rispettivamente), indicando una generale buona tollerabilità delle terapie adiuvanti proposte che permette di portarle a termine.

Il secondo motivo di sospensione della terapia adiuvante per frequenza è poi il decesso del paziente (n=2, 12.50% nel gruppo terapia target vs. n=4, 40.00% nel gruppo immunoterapia).

Tale riscontro, che mostra il doppio (n=4 vs. n=2) dei pazienti deceduti nel gruppo sottoposto a immunoterapia nonostante una minore numerosità (n=15 vs. n=29) del gruppo stesso, non è statisticamente significativo (p-value 0.1767), ma potrebbe essere spiegato dal fatto che i pazienti appartenenti al gruppo dell'immunoterapia nel nostro campione risultino in media più anziani (età media 63.48 anni vs. 59.72).

Il terzo e ultimo motivo per frequenza di sospensione della terapia adiuvante studiato è la tossicità grave e incompatibile con la prosecuzione della terapia (n=2, 12.50% per terapia target vs. n=2, 20.00% per immunoterapia). Ciò suggerisce che la terapia adiuvante risulti ben tollerata dalla maggior parte dei pazienti in studio, probabilmente anche grazie a una buona gestione degli effetti collaterali da parte del team medico della struttura di Oncologia dell'AOU di Alessandria.

Sempre a proposito della tollerabilità della terapia adiuvante, infatti, la maggior parte dei pazienti (n=31, 70.45%) non ha riportato lo sviluppo di effetti avversi, mentre 13 pazienti (29.55%) sì, di cui 8/29 (27.59%) nei soggetti sottoposti a target e 5/15 (33.3%) in coloro che hanno svolto terapia con anti-PD1. La prevalenza complessiva risulta di: 30.95 [95% CI 17.62; 47.09] mentre suddivisa per i due gruppi: 29.63 [95% IC 13.75; 50.18] e 33.33 [95% IC 11.82; 61.62] per target e anti-PD rispettivamente.

Gli effetti collaterali più frequentemente riportati sono stati relativi a tossicità su tiroide, cute, apparato cardiovascolare e neutropenia (per ciascuno n=2, 4.55%), seguiti da tossicità epatica, miopatia e tromboembolia polmonare (ognuno n=1, 2.27%).

La distribuzione eterogenea degli effetti collaterali è spiegata dalla ridotta numerosità dei campioni, che a sua volta rende difficile eseguire ulteriori analisi statistiche.

Dalla letteratura emergono molte evidenze a favore dell'efficacia della terapia adiuvante nei pazienti che presentano melanoma in stadio IIIA, IIIB, IIIC, IV NED (No Evidence of Disease). Questi sono i pazienti inclusi nel nostro studio, ovvero con biopsia del linfonodo sentinella positiva per cellule tumorali.

In particolare, grazie agli studi EORTC 1325/Keynote-54 e IMMUNED, è risultata superiore in termini di DFS (non sono ancora disponibili dati sull'OS) la somministrazione di

immunoterapia con anti-PD-1 (Pembrolizumab e Nivolumab rispettivamente) rispetto al placebo.

EORTC 1325/Keynote-54 (con un follow-up mediano di 4,9 anni) ha mostrato una Relapse Free Survival (RFS) a 5 anni del 55,4% vs. 38,3% rispettivamente nel braccio Pembrolizumab vs. placebo (HR: 0,61; IC95%: 0,51-0,72).

L'immunoterapia si è inoltre dimostrata efficace indipendentemente dallo stato di espressione di PD-1, affermandosi quindi come una valida opzione di terapia di prima linea somministrabile a tutti i pazienti. Al tempo stesso, è importante notare che questo tipo di terapia possa portare a effetti collaterali gravi e talvolta fatali (Il 13% dei pazienti in trattamento con Pembrolizumab ha interrotto il trattamento per evento avverso relato al trattamento). Tali eventi non si sono verificati nel nostro campione in esame, probabilmente per l'esiguità del campione stesso o per la relativamente breve durata del follow-up clinico.

Altri studi, come CheckMate 238, hanno studiato il confronto tra Nivolumab (anti-PD-1) e Ipilimumab (anti-CTLA-4), dimostrando la superiorità in termini di RFS (endpoint primario) e OS (obiettivo secondario) delle nuove immunoterapie rispetto ai più vecchi anticorpi monoclonali anti-CTLA-4. In particolare, tale studio ha evidenziato la riduzione degli effetti collaterali portata dalle nuove terapie: l'incidenza di eventi avversi di grado 3 o 4 correlati al trattamento è stata pari al 14,4% nel braccio con Nivolumab e al 45,6% nel braccio con Ipilimumab.

Altri studi sono serviti invece a dimostrare la superiorità della terapia con inibitori a bersaglio molecolare rispetto al placebo nei pazienti con mutazione di BRAF V600E o V600K; tra questi, lo studio COMBI-AD ha confrontato l'efficacia di Dabrafenib + Trametinib vs. placebo dopo chirurgia radicale, ricavandone i seguenti risultati: ad un follow-up minimo di 2,5 anni (mediana 2,8 anni), la RFS (primary endpoint dello studio) stimata a 3 anni è stata del 58% vs 39% nel gruppo di terapia vs placebo, rispettivamente. Il rischio di ripresa di malattia è stato ridotto del 53% nel braccio che ha ricevuto terapia rispetto al gruppo di controllo, e l'OS stimata a 3 anni è stata dell'86% vs 77% nei due gruppi. Sono stati poi pubblicati aggiornamenti successivi dello studio, a 44 e 59 mesi, che hanno confermato la

superiorità della terapia target rispetto al placebo quantomeno in termini di RFS; l'OS invece non è più stata aggiornata dopo la prima pubblicazione.

Il primo endpoint del nostro studio riguarda l'*Overall Survival* (OS) in seguito a somministrazione di terapia target e immunoterapia e le eventuali differenze tra i due farmaci. Dai risultati prodotti dal nostro studio si deduce che in totale 26 (59.09%) soggetti sono attualmente vivi senza progressione, 7 (15.91%) sono vivi ma con progressione, 1 (2.27%) deceduto ma senza progressione e 10 (22.73%) sono deceduto con progressione, quindi che la maggior parte dei pazienti sono vivi e non progrediti e che tra i pazienti con progressione sono simili le numerosità dei sottogruppi deceduti e vivi.

Dei soggetti in studio, ai pazienti che non presentavano mutazione di BRAF è stata somministrata immunoterapia, mentre a quasi tutti i pazienti che presentavano la mutazione è stata somministrata terapia target; soltanto un paziente ha infatti ricevuto immunoterapia pur avendo la mutazione di BRAF. Questo approccio è coerente con le linee guida più recenti, che indicano il beneficio di terapia adiuvante di uno dei due tipi nei pazienti, come quelli inclusi nel nostro studio, con stadio AJCC 8 superiore o uguale a IIIA, ma differisce in parte dalle ultime evidenze. Nonostante non vi siano ancora in letteratura studi conclusivi a riguardo, infatti, gli studi SECOMBIT e DREAM-SEQ sembrano favorire l'immunoterapia come prima linea anche nei pazienti che presentano la mutazione di BRAF. È molto probabile quindi che nei prossimi anni l'approccio alla terapia adiuvante subisca dei cambiamenti, determinando una somministrazione di immunoterapia sostanzialmente indiscriminata ai pazienti candidati all'esecuzione di terapia adiuvante.

Per quanto riguarda l'OS del campione in analisi, risulta che: 11 soggetti muoiono (25.00%). Il tempo mediano di sopravvivenza è 44.98 [95% CI 29.74; NA] mesi. Il p-value del log-rank test è 0.627, pertanto non sembra esserci una differenza statisticamente significativa di sopravvivenza tra i due gruppi.

Tale risultato è in linea con i dati descritti dalla letteratura, in quanto i benefici non ancora definitivamente dimostrati dell'immunoterapia rispetto alla terapia target riguardano soprattutto la DFS, che infatti costituisce il secondo endpoint del nostro studio.

Per quanto riguarda la *Disease Free Survival* (DFS) del nostro campione, 18 (40.91%) soggetti sono andati incontro a progressione o morte. Il tempo di progressione è 38.79 [95% CI 21.64; 46.07]. Il p-value del log-rank test risulta 0.397, quindi anche in questo caso non appare una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi. In questo caso, il dato potrebbe essere spiegato dalla relativa esiguità del campione, soprattutto per quanto riguarda il sottogruppo di pazienti che ha eseguito terapia adiuvante con anti-PD-1 (n=15), oppure dalla relativa brevità del follow-up, che è di circa due anni (23.80 mesi).

Saranno necessari ulteriori studi clinici, di più larga portata e di maggiore durata, per determinare se in futuro si continuerà a seguire l'attuale razionale di terapia, che prevede di somministrare la terapia target ai pazienti che presentano la mutazione di BRAF e l'immunoterapia a chi risulta negativo all'analisi mutazionale.

Capitolo 6 – **CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI**

Le due nuove classi di terapie adiuvanti, immunoterapia con inibitori del checkpoint e terapia target con inibitori a bersaglio molecolare, hanno rappresentato fin dalla loro approvazione da parte di FDA ed EMA un cambiamento radicale per la gestione clinica di pazienti affetti da melanoma in stadio avanzato (stadio AJCC 8a edizione uguale o superiore a IIIA) e, come tali, ne è raccomandato l'utilizzo dalle ultime linee guida AIOM 2023. Dallo studio da noi condotto emerge che le nuove terapie adiuvanti possiedono elevati tassi di controllo di malattia anche in un contesto *real life*, che implica il trattamento di pazienti meno selezionati di quelli generalmente inclusi negli studi clinici.

La casistica del nostro campione si è dimostrata sostanzialmente conforme a quella descritta dai più importanti studi clinici dal punto di vista epidemiologico. Un'importante eccezione a questo proposito è dovuta alla percentuale di pazienti con mutazione di BRAF, che sono meno rappresentati a livello della popolazione generale rispetto a quanto risulta dal nostro campione (50% vs. 71.4%). Questa apparente discrepanza può essere spiegata dalla relativa esiguità del campione del nostro studio, che comprende 44 pazienti.

A fronte di un campione di pazienti con biopsia del linfonodo sentinella positiva per cellule tumorali, il nostro studio ha confermato il ruolo sempre più marginale della linfadenectomia e quello al contrario fondamentale della terapia adiuvante.

Per quanto riguarda la terapia adiuvante, è risultata conclusa nella maggior parte dei pazienti. Il motivo di tale conclusione è stato, nella maggior parte dei casi, la naturale fine del percorso terapeutico; solo 4 (15.38%) dei 26 pazienti attualmente non in terapia adiuvante hanno riportato tossicità della terapia adiuvante tale da portare a sospensione del trattamento. Gli eventi avversi farmaco-correlati infatti hanno colpito una minoranza dei pazienti in esame e si sono dimostrati piuttosto eterogenei, rendendo poco significative le analisi statistiche a

riguardo. Occorre, in ogni caso, gestire tali eventi in modo tale da garantire ai pazienti non solo un miglioramento della quantità ma anche della qualità di vita.

Infine, per quanto riguarda l'efficacia non sono state osservate differenze statisticamente significative tra le due categorie di farmaci né in termini di OS (endpoint primario) né di DFS (endpoint secondario). Tali dati, per quanto verosimilmente influenzati dalla ridotta numerosità dei pazienti in analisi e dalla breve durata del follow up (mediana 23.80 mesi), sono in accordo con la letteratura attualmente disponibile ma è possibile che nei prossimi anni mostrino delle differenze maggiori alla luce di ulteriori studi.

Rimangono infatti aperte numerose questioni, di cui la principale è quale farmaco sia da somministrare in prima linea nei pazienti che presentano melanoma avanzato con la mutazione di BRAF. A tal proposito, si renderanno necessari studi randomizzati e controllati su larga scala e di lunga durata per valutare la superiorità dell'immunoterapia rispetto alla terapia target che è stata ipotizzata sulla base di alcuni recenti studi di minore portata.

Altri approcci terapeutici al melanoma avanzato che dovranno essere approfonditi in futuro comprendono invece le terapie neoadiuvanti e la rimozione chirurgica delle metastasi a distanza. Per quanto riguarda le terapie neoadiuvanti, ovvero somministrate prima dell'intervento chirurgico di rimozione primitiva, i dati più promettenti sembrano provenire sempre dai farmaci immunoterapici come Pembrolizumab e Nivolumab [106-107-108].

Riguardo la metastasectomia, invece, tale intervento dovrebbe essere preso in considerazione nei pazienti con malattia oligometastatica, di cui quelli che presentano metastasi solitarie sono i migliori candidati, in quanto la chirurgia potrebbe garantire loro un lungo periodo libero da malattia, soprattutto se è possibile ottenere una resezione completa [109-110-111]. In questi pazienti dovrebbe comunque essere considerata l'associazione tra la metastasectomia e la terapia sistemica o l'inserimento in trial clinici, in quanto costituiscono soggetti ad elevato rischio di sviluppare ulteriori metastasi.

RINGRAZIAMENTI

Un doveroso e sentito ringraziamento va alla Professoressa Paola Savoia per avermi accordato la possibilità e la fiducia necessarie a svolgere questo progetto nonostante la distanza. La sua è stata una guida costante e preziosa.

Ringrazio inoltre il dottor Marco Ghiglione per avermi accolta all'interno delle sale di Chirurgia Plastica, e per avermi trasmesso la passione per la disciplina chirurgica attraverso la sua competenza. Non posso non menzionare anche la dottoressa Ileana Orejuela e il dottor Danilo Manno. Da ognuno di loro ho imparato lezioni insostituibili su cosa significhi indossare questo camice bianco.

L'ultimo ma non meno importante ringraziamento lo devo al dottor Luigi Cerbone, che mi ha seguito passo dopo passo nell'ideazione e stesura di questa tesi. Dire che altrimenti non avrei saputo da dove cominciare non è un'iperbole. Grazie anche per tutti i consigli offerti, cercherò di farne tesoro.

BIBLIOGRAFIA

1. INTRODUZIONE

1.1 IL MELANOMA

1.1.1 DEFINIZIONE

- 1 Smith, Yolanda. 2023. Melanoma History. News-Medical, <https://www.news-medical.net/health/Melanoma-History.aspx>.
- 2 Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. GLoBoCaN 2008, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC Cancer- Base No. 10 [internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>

1.1.2 EPIDEMIOLOGIA

- 3 Sacchetto L, Zanetti R, Comber H, et al. Trends in incidence of thick, thin and in situ melanoma in Europe. Eur J Cancer. 2018; 92:108-18.
- 4 MACKIE, R. M.; HAUSCHILD, Axel; EGGERMONT, A. M. M. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. Annals of Oncology, 2009, 20: vi1-vi7.
- 5 I numeri del cancro in Italia. Rapporto AIOM-AIRTUM 2022. Available from: <https://www.aiom.it/i-numeri-del-cancro-in-italia/>

1.1.3 FATTORI DI RISCHIO E PREVENZIONE

- 6 Goldstein AM, Chan M, Harland M, et al. Features associated with germline CDKN2A mutations: a GenoMELstudy of melanoma-prone families from three continents. J Med Genet. 2007; 44:99-106.
- 7 Bruno W, Pastorino L, Ghiorzo P, et al. Multiple primary melanomas (MPMs) and criteria for genetic assessment: MultiMEL, a multicenter study of the Italian Melanoma Intergroup. J Am Acad Dermatol. 2016; 74:325.
- 8 Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. Eur J Cancer. 2005; 41(1):28-44.
- 9 Vourc'h-Jourdain M, Martin L, Barbarot S, et al. Large congenital melanocytic nevi: therapeutic management and melanoma risk: a systematic review. J Am Acad Dermatol. 2013; 68(3):493-8.
- 10 Ivry GB, Ogle CA, Shim EK. Role of sun exposure in melanoma. Dermatol Surg. 2006; 32:481-92.
- 11 Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. Eur J Cancer. 2005; 41(1):45-60.

- 12 Whiteman DC, Whiteman CA, Green AC. Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma: a systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control*. 2001; 12:69-82.
- 13 Green AC, Williams GM, Logan V, et al. Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up. *J Clin Oncol*. 2011; 29(3):257-63.
- 14 Boniol M, Autier P, Boyle P, et al. Cutaneous melanoma attributable to sunbeds use: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2012; 345:e4757.
- 15 Dinnes J, Deeks JJ, Chuchu N, et al. Dermoscopy, with and without visual inspection, for diagnosing melanoma in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018; 12(12):CD011902.
- 16 Kalkhoran S, Milne O, Zalaudek I, et al. Historical, clinical, and dermoscopic characteristic of thin nodular melanoma. *Arch Dermatol*. 2010; 146:311-18.
- 17 Salerni G, Terán T, Puig S, et al. Meta-analysis of digital dermoscopy follow-up of melanocytic skin lesions: a study on behalf of the International Dermoscopy Society. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013; 27(13):805-14.
- 18 Healsmith MF, Bourke JF, Osborne JE, et al. An evaluation of the revised seven-point checklist for the early diagnosis of cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol*. 1994; 130:48-50.
- 19 Abbasi NR, Shaw HM, Rigel DS, et al. Early diagnosis of cutaneous melanoma; revisiting the ABCD criteria. *JAMA*. 2004; 292:2771-6.
- 20 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- 21.
- 21 Grob JJ, Bonerandi JJ. The “ugly duckling” sign: identification of the common characteristics of nevi in an individual as a basis for melanoma screening. *Arch Dermatol*. 1998; 134(1):103-4.
- 22 Scope A, Dusza SW, Halpern AC, et al. The “ugly duckling” sign: agreement between observers. *Arch Dermatol*. 2008; 144(1):58-64.
- 23 Chuchu N, Takwoingi Y, Dinnes J, et al. Cochrane Skin Cancer Diagnostic Test Accuracy Group. Smartphone applications for triaging adults with skin lesions that are suspicious for melanoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018; 12:CD013192

1.1.4 DIAGNOSI CLINICA E PATOLOGICA (ESCISSIONE CHIRURGICA)

- 24 Sober AJ, Chuang TY, Duvic M, et al. Guidelines of care for primary cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2001; 45:579-86.
- 25 Ott PA, Berman RS. Surgical approach to primary cutaneous melanoma. *Surg Oncol Clin N Am*. 2011; 20(1):39- 56

1.1.5 REFERITO ISTOLOGICO: STADIAZIONE

- 26 AJCC: American Joint Committee on Cancer, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*, Eighth Edition [internet]. Available from: [https:// cancerstaging.org/Pages/default.aspx](https://cancerstaging.org/Pages/default.aspx)

1.1.6 REFERITO ISTOLOGICO: FATTORI PROGNOSTICI

- 27 J. Larry Jameson, Dennis L. Kasper, Dan L. Longo, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser, Joseph Loscalzo. XX edizione italiana di: Harrison. *Principi di Medicina Interna*. Casa Editrice Ambrosiana, 2021; pp. 586-594
- 28 Guerry D, Synnestved M, Elder DE, et al. Lessons from tumor progression: the invasive radial growth phase of melanoma is common, incapable of metastasis, and indolent. *J Invest Dermatol*. 1993; 100:S342-5.
- 29 Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis in the cutaneous melanoma. *Ann Surg*. 1970; 172:902-8.
- 30 Buttner P, Garbe C, Bertz J, et al. Primary cutaneous melanoma. Optimized cutoff points of tumor thickness and importance of Clark's level for prognostic classification. *Cancer*. 1995; 75:2499-506.
- 31 In't Hout FE, Haydu LE, Murali R, et al. Prognostic importance of the extent of ulceration in patients with clinically localized cutaneous melanoma. *Ann Surg*. 2012; 255(6):1165-70.
- 32 Mandalà M, Galli F, Cattaneo L, et al. Mitotic rate correlates with sentinel lymph node status and outcome in cutaneous melanoma greater than 1 millimeter in thickness: a multi-institutional study of 1524 cases. *J Am Acad Dermatol*. 2017; 76(2):264-73.
- 33 Haanen JB, Baars A, Gomez R, et al. Melanoma-specific tumor-infiltrating lymphocytes but not circulating melanoma-specific T cells may predict survival in resected advanced-stage melanoma patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2006; 55:451-8.
- 34 Azimi F, Scolyer RA, Rumcheva P, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol*. 2012; 30(21):2678- 83.

- 35 Rao UN, Lee SJ, Luo W, et al. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes and a dominant nodule within primary melanoma are prognostic factors for relapse-free survival of patients with thick (t4) primary melanoma: pathologic analysis of the e1690 and e1694 intergroup trials. *Am J Clin Pathol.* 2010; 133(4):646-53.
- 36 Aung PP, Nagarajan P, Prieto VG. Regression in primary cutaneous melanoma: etiopathogenesis and clinical significance. *Lab Invest.* 2017; 97:657-68.
- 37 Ribero S, Osella-Abate S, Sanlorenzo M, et al. Favourable prognostic role of regression of primary melanoma in AJCC stage I-II patients. *Br J Dermatol.* 2013; 169(6):1240-5.
- 38 Aivazian K, Ahmed T, El Sharouni MA, et al. Histological regression in melanoma: impact on sentinel lymph node status and survival. *Mod Pathol.* 2021; 34(11):1999-2008.
- 39 Bartlett EK, Gupta M, Datta J, et al. Prognosis of patients with melanoma and microsatellitosis undergoing sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg Oncol.* 2014; 21:1016-23.
- 40 Stucky CC, Gray RJ, Dueck AC, et al. Risk factors associated with local and in-transit recurrence of cutaneous melanoma. *Am J Surg.* 2010; 200(6):770-4.
- 41 The Cancer Genome Atlas Network. Genomic classification of cutaneous melanoma. *Cell.* 2015; 16:1681-96.
- 42 Zhang T, Dutton-Regester K, Brown KM, et al. The genomic landscape of cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2016; 29:266-83.
- 43 Palmieri G, Colombino M, Casula M, et al. Molecular pathways in melanoma genesis: what we learned from next-generation sequencing approaches. *Curr Oncol Rep.* 2018; 20:86.
- 44 Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, et al. The genetic evolution of melanoma from precursor lesions. *N Engl J Med.* 2015; 373:1926-36.
- 45 Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet.* 2003; 33:19-20.
- 46 Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, et al. Dabrafenib and trametinib versus dabrafenib and placebo for Val600 BRAF-mutant melanoma: a multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet.* 2015; 386(9992):444-51.
- 47 Long GV, Flaherty KT, Stroyakovskiy D, et al. Dabrafenib plus trametinib versus dabrafenib monotherapy in patients with metastatic BRAF V600E/K-mutant melanoma: long-term survival and safety analysis of a phase 3 study. *Ann Oncol.* 2017; 27(7):1631-9.
- 48 Long GV, Hauschild A, Santinami M, et al. Adjuvant dabrafenib plus trametinib in stage III BRAF-mutate melanoma. *N Engl J Med.* 2017; 377(19):1813-23.

- 49 Robert C, Karaszewska B, Schachter J, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *N Engl J Med*. 2015; 372(1):30-
- 50 Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 371(20):1867-76.
- 51 Ascierto PA, McArthur GA, Dréno B, et al. Cobimetinib combined with vemurafenib in advanced BRAF(V600)-mutant melanoma (coBRIM): updated efficacy results from a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016; 17(9):1248-60.
- 52 Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, et al. Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2018; 19(5):603-15.
- 53 Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, et al. Overall survival in COLUMBUS: A phase 3 trial of encorafenib (EN- CO) plus binimetinib (BINI) vs vemurafenib (VEM) or enco in BRAF-mutant melanoma; 2018. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.9504
- 54 Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, et al. Results of COLUMBUS Part 2: A phase 3 trial of encorafenib (EN- CO) plus binimetinib (BINI) versus ENCO in BRAF-mutant melanoma. *Ann Oncol*. 2017; 28(suppl 5):v428-48.

1.2 TERAPIA

1.2.1 TERAPIA CHIRURGICA: ESCISSIONE PRIMARIA, ALLARGAMENTO E BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA

- 55 Sladden MJ, Balch C, Barzilai DA, et al. Surgical excision margins for primary cutaneous melanoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009; 9.
- 56 Thomas JM, Newton-Bishop J, A'Hern R, et al. Excision margins in high-risk malignant melanoma. *N Engl J Med*. 2004; 350:757-66.
- 57 McCready DR, Ghazarian DM, Hershkop MS, et al. Sentinel lymph-node biopsy after previous wide local excision for melanoma. *Can J Surg* 2001; 44(6): 432-4
- 58 McCready DRJ, Kelemen PR, Essner R, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy after wide local excision of primary melanoma. *Am Coll Surg*. 1999; 189:247-52.

- 59 Veronesi U, Cascinelli N, Adamus J, et al. Thin stage I primary cutaneous malignant melanoma. Comparison of excision with margins of 1 or 3 melanoma. *N Engl J Med.* 1988; 318:1159-62.
- 60 Cohn-Cedamark G, Rutquist LE, 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. *Am Cancer Soc.* 2000; 89:1495-501.
- 61 Hayes AJ, Maynard L, Coombes G, et al. Wide versus narrow excision margins for high-risk, primary cutaneous melanomas: long-term follow-up of survival in a randomised trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17(2):184-92.
- 62 Nieweg OE, Uren RF, Thompson JF. The history of sentinel lymph node biopsy. *Cancer J.* 2015 Jan-Feb;21(1):3-6. doi: 10.1097/PPO.0000000000000091. PMID: 25611772.
- 63 D. Reintgen et al., The orderly progression of melanoma nodal metastases, *Ann. Surg.*, vol. 220, no.6, pp. 759-767, 1994
- 64 Bund V, Lecointre L, Akladios C. The saga of lymph node surgery in malignant melanoma: a history repeating itself in gynecologic oncology. *Chin Clin Oncol.* 2021 Apr;10(2):21. doi: 10.21037/cco-20-227. Epub 2021 Mar 23. PMID: 33832280.
- 65 Gonzalez A. Sentinel Lymph Node Biopsy: Past and Present Implications for the Management of Cutaneous Melanoma with Nodal Metastasis. *Am J Clin Dermatol.* 2018 Nov;19(Suppl 1):24-30. doi: 10.1007/s40257-018-0379-0. PMID: 30374897; PMCID: PMC6244615.
- 66 Ayhan A, Celik H, Dursun P. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in gynecological cancers: a critical review of the literature. *World J Surg Oncol.* 2008 May 20;6:53. doi: 10.1186/1477-7819-6-53. PMID: 18492253; PMCID: PMC2409335.
- 67 Testori A, Mozzillo N. Surgical techniques of melanoma and sentinel node biopsy. *Semin Oncol.* 2002 Aug;29(4):328-35. doi: 10.1053/sonc.2002.34110. PMID: 12170435.
- 68 Morton DL, Thompson JF, Essner R, et al. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg.* 1999; 230(4):453-63; discussion 463-5.
- 69 Faries MB, Thompson JF, Cochran AJ, et al. Completion dissection or observation for sentinel-node metastasis in melanoma. *N Engl J Med.* 2017; 376(23):2211-22.

- 70 Leiter U, Stadler R, Mauch C, et al. Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive melanoma (DeCOG-SLT): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016; 17(6):757-67.
- 71 Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, et al. Final trial report of sentinel-node biopsy versus nodal observation in melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 370(7):599-609.

1.2.2 TERAPIA ADIUVANTE

- 72 Alessandro A. E. Testori, Silvia Chiellino, Alexander C. J. van Akkooi, Adjuvant Therapy for Melanoma: Past, Current, and Future Developments *Cancers* 2020, 12(7), 1994; <https://doi.org/10.3390/cancers12071994>
- 73 Agarwala S.S., Lee S.J., Flaherty L.E., Smylie M., Kefford R.F., Carson W.E., Cohen G., Kirkwood J.M. Randomized phase III trial of high-dose interferon alfa-2b (HDI) for 4 weeks induction only in patients with intermediate- and high-risk melanoma (Intergroup trial E 1697) *J. Clin. Oncol*. 2011;29:8505. doi: 10.1200/jco.2011.29.15_suppl.8505.
- 74 Eggermont A., Suciú S., Santinami M., Testori A., Kruit W.H., Marsden J., Punt C.J., Salès F., Gore M., Mackie R., et al. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma: Final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial. *Lancet*. 2008;372:117–126. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61033-8.
- 75 Mocellin S., Pasquali S., Rossi C.R., Nitti N. Interferon Alpha Adjuvant Therapy in Patients with High-Risk Melanoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst*. 2010;102:493–501. doi: 10.1093/jnci/djq009.
- 76 Eggermont A., Sileni V.C., Grob J.-J., Dummer R., Wolchok J.D., Schmidt H., Hamid O., Robert C., Ascierto P.A., Richards J.M., et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma (EORTC 18071): A randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16:522–530. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70122-1
- 77 Tarhini A.A., Lee S.J., Hodi F.S., Rao U.N.M., Cohen G.I., Hamid O., Hutchins L.F., Sosman J.A., Kluger H., Sondak V.K., et al. A phase III randomized study of adjuvant ipilimumab (3 or 10 mg/kg) versus high-dose interferon alfa-2b for resected high-risk melanoma (U.S. Intergroup E1609): Preliminary safety and efficacy of the ipilimumab arms. *J. Clin. Oncol*. 2017;35:9500. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.9500.
- 78 Eggermont AM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, et al. Prolonged survival in stage III melanoma with ipilimumab adjuvant therapy. *N Engl J Med*. 2016; 375(19):1845-55.

- 79 Somarouthu B, Lee SI, Urban T, Sadow CA, Harris GJ, Kambadakone A. Immune-related tumour response assessment criteria: a comprehensive review. *Br J Radiol*. 2018 Apr;91(1084):20170457. doi: 10.1259/bjr.20170457. Epub 2018 Feb 14. PMID: 29172675; PMCID: PMC5966001.
- 80 Eggermont A, Blank C, Mandalà M, et al. Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma. *N Engl J Med*. 2018; 378(19):1789-801.
- 81 Eggermont AM, Blank CU, Mandalà M, et al. Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma (EORTC 1325-MG/KEYNOTE-054): distant metastasis-free survival results from a double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2021; 22(5):643-54.
- 82 Eggermont AM, Kicinski M, Blank U, et al. Five-year analysis of adjuvant pembrolizumab or placebo in stage III melanoma. *NEJM Evid*. 2022; 1(11).
- 83 Zimmer L, Livingstone E, Hassel JC, et al. Adjuvant nivolumab plus ipilimumab or nivolumab monotherapy versus placebo in patients with resected stage IV melanoma with no evidence of disease (IMMUNED): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2020; 395(10236):1558-68.
- 84 Serritella AV, Shenoy NK. Nivolumab Plus Ipilimumab vs Nivolumab Alone in Advanced Cancers Other Than Melanoma: A Meta-Analysis. *JAMA Oncol*. 2023 Oct 1;9(10):1441-1446. doi: 10.1001/jamaoncol.2023.3295. PMID: 37651124; PMCID: PMC10472261
- 85 Chapman P.B., Hauschild A., Robert C., Haanen J.B., Ascierto P., Larkin J., Dummer R., Garbe C., Testori A., Maio M., et al. Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. *N. Engl. J. Med*. 2011;364:2507–2516. doi: 10.1056/NEJMoa1103782.
- 86 Hauschild A., Grob J.-J., Demidov L.V., Jouary T., Gutzmer R., Millward M., Rutkowski P., Blank C.U., Miller W.H., Kaempgen E., et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: A multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet*. 2012;380:358–365. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60868-X.
- 87 Long G.V., Stroyakovskiy D., Gogas H., Levchenko E.V., De Braud F., Larkin J., Garbe C., Jouary T., Hauschild A., Grob J.-J., et al. Combined BRAF and MEK Inhibition versus BRAF Inhibition Alone in Melanoma. *N. Engl. J. Med*. 2014;371:1877–1888. doi: 10.1056/NEJMoa1406037.

- 88 Flaherty K.T., Robert C., Hersey P., Nathan P., Garbe C., Milhem M., Demidov L.V., Hassel J.C., Rutkowski P., Mohr P., et al. Improved Survival with MEK Inhibition in BRAF-Mutated Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2012;367:107–114. doi: 10.1056/NEJMoa1203421.
- 89 Robert C., Karaszewska B., Schachter J., Rutkowski P., Mackiewicz A., Stroyakovskiy D., Lichinitser M., Dummer R., Grange F., Mortier L., et al. Improved Overall Survival in Melanoma with Combined Dabrafenib and Trametinib. *N. Engl. J. Med.* 2015;372:30–39. doi: 10.1056/NEJMoa1412690
- 90 Hauschild A, Dummer R, Schadendorf D, et al. Longer follow-up confirms relapse-free survival benefit with adjuvant dabrafenib plus trametinib in patients with resected BRAF V600-mutant stage III melanoma. *J Clin Oncol.* 2018; 36(35):3441-9.
- 91 Dummer R., Ascierto P.A., Gogas H., Arance A., Mandalà M., Liskay G., Garbe C., Schadendorf D., Krajsová I., Gutzmer R., et al. Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): A multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19:603–615. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30142-6.
- 92 Dummer R, Hauschild A, Santinami M, et al. Five-year analysis of adjuvant dabrafenib plus trametinib in stage III melanoma. *N Engl J Med.* 2020; 383:1139-48.
- 93 Ascierto PA, Mandalà M, Ferrucci PF, et al. Sequencing of ipilimumab plus nivolumab and encorafenib plus binimetinib for untreated BRAF-mutated metastatic melanoma (SECOMBIT): a randomized, three-arm, open-label phase II trial. *J Clin Oncol.* 2023; 41(2):212-21
- 94 Henderson MA, Burmeister BH, Ainslie J, et al. Adjuvant lymph-node field radiotherapy versus observation only in patients with melanoma at high risk of further lymph-node field relapse after lymphadenectomy (ANZMTG 01.02/TROG 02.01): 6-year follow-up of a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2015; 16(9):1049-60.

1.2.3 LINFADENECTOMIA

- 95 Balch CM, Soong SJ, Murad TM, et al. A multifactorial analysis of melanoma: III. Prognostic factors in melanoma patients with lymph node metastases (stage II). *Ann Surg.* 1981; 193(3):377-88.
- 96 Morton DL, Wanek L, Nizze JA, et al. Improved long-term survival after lymphadenectomy of melanoma metastatic to regional nodes. Analysis of prognostic factors in 1134 patients from the John Wayne Cancer Clinic. *Ann Surg.* 1991; 214(4):491-9; discussion 499-501.

- 97 Rossi CR, Mozzillo N, Maurichi A, et al. The number of excised lymph nodes is associated with survival of melanoma patients with lymph node metastasis. *Ann Oncol.* 2014; 25(1):240-6.)
- 98 Conic RZ, Cabrera CI, Khorana AA, et al. Determination of the impact of melanoma surgical timing on survival using the National Cancer Database. *J Am Acad Dermatol.* 2018; 78(1):40-6.
- 99 Oude Ophuis CMC, van Akkoi ACJ, Rutkowski P, et al. Timing of completion lymphadenectomy after positive sentinel node biopsy in patients with melanoma. *Br J Surg.* 2017; 104(6):726-33.

5. DISCUSSIONE

- 100 Garrison, Z.; Clister, T.; Bleem, E.; Berry, E.G.; Kulkarni, R.P. Comparison of Immunotherapy versus Targeted Therapy Effectiveness in BRAF-Mutant Melanoma Patients and Use of cGAS Expression and Aneuploidy as Potential Prognostic Biomarkers. *Cancers* 2024, 16, 1027. <https://doi.org/10.3390/cancers16051027>
- 101 Sun C, España S, Richarz N, Solé-Blanch C, Boada A, Martínez-Cardús A, Chu A, Liu Z, Manzano JL. Targeted therapy or immunotherapy in BRAF-mutated metastatic melanoma: a Spanish center's decade of experience. *Front Oncol.* 2024 Feb 21;14:1322116. doi: 10.3389/fonc.2024.1322116. PMID: 38450188; PMCID: PMC10915752.
- 102 Castro E Souza B, Morais Silva DH, Valente NYS, Kakizaki P, Luce MCA, Bandeira LG. Cutaneous melanoma: a retrospective study of 18 years. Are there gender differences? *An Bras Dermatol.* 2021 Sep-Oct;96(5):619-623. doi: 10.1016/j.abd.2020.08.022. Epub 2021 Jul 18. PMID: 34284941; PMCID: PMC8441497
- 103 Zocchi L, Lontano A, Merli M, Dika E, Nagore E, Quaglino P, Puig S, Ribero S. Familial Melanoma and Susceptibility Genes: A Review of the Most Common Clinical and Dermoscopic Phenotypic Aspect, Associated Malignancies and Practical Tips for Management. *J Clin Med.* 2021 Aug 23;10(16):3760. doi: 10.3390/jcm10163760. PMID: 34442055; PMCID: PMC8397216
- 104 Green A, MacLennan R, Youl P, Martin N. Site distribution of cutaneous melanoma in Queensland. *Int J Cancer.* 1993 Jan 21;53(2):232-6. doi: 10.1002/ijc.2910530210. PMID: 8425760
- 105 Fortes C, Mastroeni S, Caggiati A, Passarelli F, Zappalà A, Capuano M, Bono R, Nudo M, Marino C, Michelozzi P. The effect of time to sentinel lymph node biopsy on cutaneous

melanoma survival. *Am J Surg.* 2016 Nov;212(5):935-940. doi: 10.1016/j.amjsurg.2016.02.025. Epub 2016 May 12. PMID: 27266393.

6. CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

- 106 Patel SP, Othus M, Chen Y, Wright GP Jr, Yost KJ, Hyngstrom JR, Hu-Lieskovan S, Lao CD, Fecher LA, Truong TG, Eisenstein JL, Chandra S, Sosman JA, Kendra KL, Wu RC, Devoe CE, Deutsch GB, Hegde A, Khalil M, Mangla A, Reese AM, Ross MI, Poklepovic AS, Phan GQ, Onitilo AA, Yasar DG, Powers BC, Doolittle GC, In GK, Kokot N, Gibney GT, Atkins MB, Shaheen M, Warneke JA, Ikeguchi A, Najera JE, Chmielowski B, Crompton JG, Floyd JD, Hsueh E, Margolin KA, Chow WA, Grossmann KF, Dietrich E, Prieto VG, Lowe MC, Buchbinder EI, Kirkwood JM, Korde L, Moon J, Sharon E, Sondak VK, Ribas A. Neoadjuvant-Adjuvant or Adjuvant-Only Pembrolizumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 2023 Mar 2;388(9):813-823. doi: 10.1056/NEJMoa2211437. PMID: 36856617; PMCID: PMC10410527.
- 107 Lee AY, Brady MS. Neoadjuvant immunotherapy for melanoma. *J Surg Oncol.* 2021 Mar;123(3):782-788. doi: 10.1002/jso.26229. Epub 2020 Oct 1. PMID: 33002195; PMCID: PMC8366312.
- 108 Saad M, Tarhini AA. Neoadjuvant Therapy in Melanoma: Where Are We Now? *Curr Oncol Rep.* 2023 Apr;25(4):325-339. doi: 10.1007/s11912-023-01369-6. Epub 2023 Feb 13. PMID: 36781621
- 109 Ollila DW, Gleisner AL, Hsueh EC. Rationale for complete metastasectomy in patients with stage IV metastatic melanoma. *J Surg Oncol.* 2011; 104(4):420-4.
- 110 Deutsch GB, Flaherty DC, Kirchoff DD, et al. Association of surgical treatment, systemic therapy, and survival in patients with abdominal visceral melanoma metastases, 1965-2014: relevance of surgical cure in the era of modern systemic therapy. *JAMA Surg.* 2017; 152(7):672-8.
- 111 He M, Lovell J, Ng BL, et al. Post-operative survival following metastasectomy for patients receiving BRAF inhibitor therapy is associated with duration of pre-operative treatment and elective indication. *J Surg Oncol.* 2015; 111(8):980-4