

Raccomandazioni per consulenza e test genetico nel melanoma ereditario
Gruppo SIGU-ONC

G. Bianchi Scarrà, P. Grammatico, M. Genuardi, B. Pasini
in collaborazione con W. Bruno e P. De Simone

Fonti:

Kefford R., Bishop Newton J., Bergmann W., Tucker M. and Melanoma Genetics Consortium.
Consensus statement of the Melanoma Genetics Consortium on counselling and DNA testing for individuals perceived to be genetically predisposed to melanoma. J Clin Oncol. 1999 Oct;17(10):3245

W.J. Poo-Hwu et al Follow-up Recommendations for Patients with American Joint Committee on Cancer Stages I-III Malignant Melanoma Cancer 1999 vol. 86 p.2252-2258

R Kefford, J Newton Bishop, M Tucker, B Bressac-de Paillerets, G Bianchi-Scarra', W Bergman, A Goldstein, S Puig, R Mackie, D Elder, J Hansson, N Hayward, D Hogg, H Olsson for the Melanoma Genetics Consortium Genetic Testing for Melanoma Lancet Oncology 2002 Nov 3:653-654

Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) Cutaneous melanoma. A national clinical guideline. SIGN publication 2003 N. 72, Edinburgh, Scotland

Hansen CB, Wadge LM, Lowstuter K, Boucher K, Leachman SA Clinical germline genetic testing for melanoma Lancet Oncol. 2004 May;5(5):314-9

Premesse

Questo documento definisce alcuni principi generali allo scopo di fornire uno strumento di riferimento per l'esecuzione della consulenza e del test genetico nel melanoma familiare. Nasce da una sintesi delle attuali acquisizioni scientifiche e rappresenta un primo consenso che necessiterà di periodico aggiornamento secondo l'evoluzione delle conoscenze scientifiche.

Il melanoma insorge nell'85% dei casi in sede cutanea e rappresenta il 5% dei tumori maligni della cute, dei quali è la forma più grave. L'incidenza del melanoma mostra notevoli variazioni nelle diverse popolazioni; nella popolazione caucasica, in età adulta, è decine di volte più frequente che nelle altre. Gli studi epidemiologici degli ultimi trent' anni hanno mostrato, nei paesi a rischio medio come quelli europei e gli Stati Uniti, un incremento dei tassi di incidenza - soprattutto dei melanomi sottili - e un rallentamento dei tassi di mortalità nei gruppi di età più giovane dovuto al risultato favorevole della diagnosi precoce. Anche per quanto riguarda i dati di sopravvivenza si cominciano a notare gli effetti positivi della diagnosi precoce, essendo lo spessore del melanoma il principale fattore prognostico, con un aumento della sopravvivenza su scala mondiale tra il 1978 e il 1989 del 10% a 5 anni.

I fattori di rischio per lo sviluppo di melanoma cutaneo sono da un lato quelli legati a fattori ambientali (fattori di rischio esogeni), quali l'eccessiva esposizione ai raggi UV ambientali; dall'altro quelli legati alle caratteristiche specifiche del singolo individuo (fattori di rischio endogeni) quali l'etnia, il fototipo cutaneo, il colore dei capelli, degli occhi, la presenza di nevi atipici/displastici, o di familiarità per la neoplasia in oggetto.

Il melanoma familiare è definito in base alla presenza di due o più individui affetti, distribuiti in 2 o 3 generazioni di uno stesso ramo familiare.

La frequenza del melanoma familiare è stimata intorno al 10% dei casi totali di melanoma.

Mediante analisi di segregazione è stato riscontrato un modello di trasmissione della suscettibilità al melanoma di tipo Autosomico Dominante (AD), a penetranza incompleta ed espressività variabile.

Secondo dati internazionali, mutazioni germinali a carico della regione codificante del gene *CDKN2A* sono identificabili in una frazione compresa tra il 20% e il 40% delle famiglie con due o più affetti da melanoma .

Nell'Italia settentrionale, la percentuale è pari al 30% nelle famiglie con due affetti imparentati con relazione di primo grado, e al 45% in quelle con tre affetti (Mantelli et al. 2002, Bianchi Scarrà 2005, Vancouver 6th World Conference on Melanoma).

Il gene *CDKN2A*, localizzato nella regione 9p21, codifica per due proteine ad azione di oncosoppressore:

- p16, coinvolta nella regolazione del ciclo cellulare come inibitore delle chinasi ciclino-dipendenti CDK4 e CDK6
- p14arf (prodotto di uno splicing alternativo con l'esone 1 beta), coinvolta nella stabilizzazione di p53.

Gli altri geni di suscettibilità primaria al melanoma familiare ad oggi noti sono:

- *CDK4* (12p), che codifica per la proteina bersaglio di p16

- un ulteriore gene, che segrega con il locus 1p22 (D1S430-D12664) e di cui è in corso la mappatura fine (E.Gillanders A.J.H.G 2004)

Indicazioni per l'invio alla consulenza genetica oncologica per melanoma familiare

La proposta di iniziare un percorso di consulenza genetica oncologica per melanoma familiare, atta a valutare una situazione di rischio genetico, parte da medici di base, dermatologi, chirurghi plastici ed oncologi in presenza di una storia personale o familiare del paziente che rientri potenzialmente in uno o più dei seguenti criteri:

Storia personale o familiare di:

- Mutazione nota in un gene predisponente (*CDKN2A*, *CDK4*)
- Due o più casi di melanoma nello stesso ramo della famiglia
- Presenza di melanoma multiplo
- Sindrome del nevo displastico (o nevo atipico) e melanoma (nel paziente con DNS o nei familiari)

La diagnosi di melanoma familiare secondo il Consorzio Internazionale per la genetica del melanoma è raccomandata in presenza di:

- Tre o più casi di melanoma dello stesso ramo di una famiglia
- Due o più casi di melanoma in parenti di primo grado

L'appartenenza ad un gruppo familiare definito come sopra viene ritenuta un fattore capace di determinare un rischio relativo calcolato a livello mondiale di 35-75 volte superiore a quello presente nella popolazione generale (Kefford R. et al 1999).

Nel 2002 è stata anche rielaborata la valutazione della penetranza delle mutazioni nel gene *CDKN2A* in relazione alla zona geografica (Bishop T et al. JCO 2002).

Per la popolazione italiana sono state recentemente elaborate le curve di rischio relativo per le famiglie residenti in Liguria, il quale risulta essere circa 50 e 25 volte maggiore rispetto alla popolazione generale nei nuclei valutati a rischio genetico in cui sia rispettivamente presente o assente la mutazione nella zona codificante del gene *CDKN2A*.

I dati ad oggi disponibili sulle famiglie italiane indicano che in presenza di due casi di melanoma in parenti distribuiti in due o tre generazioni si identifica mutazione nel 20-40 % circa dei casi, con variabilità dipendente dalle zone geografiche di provenienza (G.Bianchi-Scarrà, Vancouver 6th World Conference on Melanoma). Pertanto, la soglia del 10% di probabilità, stabilita dall' American Society of Clinical Oncology (ASCO – Policy Statement on Genetic Testing - 10.1200/JCO.2003.03.189) per l'accesso ai test genetici per predisposizione oncologica è ampiamente superata, e tale criterio è da ritenersi sufficiente per l'offerta del test.

Contenuti e modalità della consulenza genetica oncologica

Colloquio iniziale (pre-test)

Durante il primo colloquio al paziente vengono illustrati:

- gli aspetti genetici del melanoma familiare
- l'utilità del test proposto ed i suoi limiti
- una stima del rischio

Nel corso di questa sessione va elaborato l'albero genealogico, esteso per almeno tre generazioni ed ai parenti di secondo grado di tutti i casi di melanoma riportati, con dati anagrafici, eventuali patologie o causa e data di morte, tipo ed età di esordio di qualunque tumore, con conferma istologica o comunque con documentazione clinica. In particolare la diagnosi di melanoma dovrebbe essere confermata dall'esame istologico; qualora non sia possibile si può cercare di derivare una conferma diagnostica dai dati derivanti dalle cartelle cliniche, dal certificato di morte o dal registro tumori.

Va raccolta inoltre la storia personale del soggetto con specifico riguardo ai fattori di rischio noti per melanoma (storia dell'esposizione solare eccessiva e/o intermittente, forti scottature in età prepuberale, tendenza a sviluppare lentiggini solari, presenza di nevi atipici/displastici).

La presentazione della stima del rischio di melanoma deve includere informazioni circa le incertezze ad essa collegate; in questo contesto può essere utile far ricorso all'ausilio di materiale iconografico per illustrarla.

Per quanto concerne la presenza in individui geneticamente predisposti di un eventuale incremento di rischio per altre neoplasie, non sono ancora disponibili dati conclusivi e cio' a tutt'oggi costituisce ancora argomento di ricerca, in particolare relativamente alle neoplasie del pancreas esocrino.

L'obiettivo della consulenza genetica per il melanoma ereditario è, infatti, di aiutare i soggetti a rischio genetico a comprendere correttamente quali siano le opzioni attualmente disponibili e a prendere le decisioni più adatte al proprio stile di vita e alle proprie personali priorità, dopo essere stati adeguatamente informati.

Secondo colloquio

In questa fase il paziente comunica la propria decisione di procedere o meno nel percorso, dopo avere rielaborato le informazioni ricevute nel primo colloquio e raccolto il materiale clinico necessario per supportare la diagnosi di melanoma familiare. Ciò può avvenire anche come prosecuzione immediata della prima sessione, se il paziente è in grado fornire durante il primo incontro le conferme diagnostiche necessarie.

Viene richiesto consenso informato scritto alla condivisione dei contenuti del primo colloquio, comprensivo anche delle indicazioni per il permesso di conservazione del campione dopo l'esecuzione del test, e di utilizzazione futura per ulteriori test diagnostici e/o per scopi di ricerca (Secondo le Linee guida SIGU sulle Biobanche Genetiche).

Test diagnostico

Ove possibile, il test genetico deve essere condotto inizialmente su un familiare affetto da melanoma.

Il test genetico inizia con l'analisi dei geni candidati (*CDKN2A*, *CDK4*) nel DNA estratto da sangue periferico di un individuo affetto da tumore.

Nel gene *CDKN2A* vanno analizzati l'intera sequenza codificante (esoni 1alfa, 1beta, 2 e 3) insieme a regioni delle giunzioni esone-introne, alla regione 5'UTR e alle alterazioni genomiche causali note (Goldstein AM., Hum Mutat. 2004 Jun; 23(6):630).

Nel gene *CDK4* va analizzato l'esone 2, nel quale sono localizzate le poche mutazioni ricorrenti finora riscontrate.

Per l'analisi di mutazioni puntiformi i metodi disponibili sono:

- sequenziamento diretto (gold standard)

- screening della zona codificante mediante dHPLC, considerato una valida alternativa (Orlow et al., JMD 2001, Nov; 3(4):158-63; Harland et al. 2006, submitted).

Al momento è in corso di validazione l'analisi della frequenza di microdelezioni genomiche eventualmente presenti al locus 9p21 (tra il marcatore telomerico D9S736 e quello centromerico D9S171) anche attraverso il metodo MLPA (MRC Holland salsa PO24 9p21/CDKN2A/2B regione MLPA Kit) disponibile dal 2003.

Uno studio inglese di stima della frequenza di tali microdelezioni con tale metodo riporta 3 delezioni germinali in 93 famiglie analizzate nelle quali non erano state precedentemente identificate mutazioni nella zona codificante di *CDKN2A* (Mistry et al., Genes Chromosomes Cancer. 2005 Nov; 44(3):292-300).

Quando il significato della mutazione identificata nell'affetto rimane incerto (test dubbio), l'eventuale esecuzione del test genetico in altri membri della famiglia deve essere proposta al solo scopo di chiarire il ruolo biologico di quella mutazione e non come test di tipo predittivo (analisi di segregazione). Quando il test genetico sul malato non porta all'identificazione di alcuna mutazione, il test viene considerato non conclusivo per l'interpretazione della storia di quella famiglia in cui non è possibile escludere la presenza di una mutazione genetica non identificata dall'analisi attualmente disponibile (test non informativo).

Quando una mutazione viene identificata in un familiare affetto, è possibile mettere a disposizione dei parenti consanguinei un test specifico di mutazione che valuta la presenza o meno nei singoli membri della famiglia di quel preciso difetto genetico.

Il test genetico predittivo per predisposizione al melanoma deve essere proposto solo a persone adulte, in grado di formulare un consenso consapevole (generalmente si può considerare un'età non inferiore a quella legale - 18 anni).

Terzo colloquio

Nel corso di questa sessione vengono discussi:

- il risultato del test
- le modalità di prevenzione e sorveglianza appropriati

Al momento del ritiro del referto è opportuno consegnare un documento schematico che, in generale, riassume le modalità di prevenzione e sorveglianza, in soggetti con accertata predisposizione allo sviluppo di melanoma cutaneo (v. *allegato 1*), le quali, nel particolare, devono comunque essere concordate con il clinico di riferimento.

Dopo la fase di valutazione del rischio che include la risposta del test genetico, deve essere proposta al soggetto la possibilità di essere seguito nel tempo dall'equipe di consulenza genetica oncologica, anche nel caso di un risultato negativo dell'analisi molecolare).

Nelle fasi immediatamente successive alla comunicazione dell'esito del test genetico è auspicabile che sia offerta la possibilità di un supporto psicologico.

Nel tempo, deve essere aiutata la fruizione corretta delle informazioni disponibili all'interno del gruppo familiare allargato.

Dopo la fase di valutazione del rischio devono, inoltre, essere fornite indicazioni sulle modalità di accesso alle strutture in grado di assicurare un'adeguata gestione delle attività cliniche previste dai programmi di prevenzione/riduzione del rischio.

La gestione dei soggetti "a rischio genetico"

Vanno implementate strategie specifiche per coloro che portano mutazione a carico dei geni CDKN2A o CDK4 e per i soggetti non portatori che, seppure in misura minore, rimangono a rischio aumentato di sviluppare melanoma.

I programmi di prevenzione personalizzati sono formulati relativamente alla situazione di rischio individuale. In particolare, per i soggetti con status mutazionale negativo appartenenti a famiglie in cui sia stata identificata mutazione è stato riportato un lieve aumento di rischio rispetto alla popolazione generale, quantitativamente paragonabile a quello conferito da un fototipo a rischio o da una storia di scottature solari importanti. Per questa categoria il tipo di follow-up viene deciso dal dermatologo, sentiti il genetista dedicato al problema specifico ed altre figure professionali integrate nell'equipe, ivi incluso il chirurgo plastico, quando richiesto.

La valutazione clinica eseguita dallo specialista dermatologo e/o chirurgo plastico del soggetto con predisposizione genetica allo sviluppo del melanoma riguarda principalmente:

- il fototipo (determinazione secondo Fitz-Patrick)
- il conteggio/la classificazione dei nevi melanocitari
- la valutazione della presenza/assenza dell'Atypical Mole Syndrome (AMS) con eventuale acquisizione di immagine digitale delle lesioni (cfr *allegato 2*).

Follow-up clinico e terapia

Le linee guida per il follow-up dei soggetti che hanno già sviluppato la malattia non differiscono da quelle generali attualmente seguite dal WHO (Cancer 1999) e sono strettamente correlate ai rischi di ricorrenza a seconda della stadiazione. Pertanto accanto ad un programma educativo (autovalutazione; vedi paragrafo successivo) atto ad individuare i segni di ricorrenza viene raccomandato questo schema:

Stadio I: controllo annuale

Stadio II: controllo semestrale per i primi due anni e quindi annuale

Stadio III: controllo trimestrale per il primo anno, quadrimestrale per il secondo anno, semestrale per gli anni 3-5.

Dal sesto anno tutti i pazienti dovrebbero fare controlli annuali per il rischio di ricorrenza tardiva o di sviluppo di melanoma multiplo metacrono.

L'impatto della diagnosi genetica sulla terapia medica e chirurgica del melanoma è oggi minimo, ma è possibile che diventi più significativo nel prossimo futuro; vi sono infatti indicazioni preliminari che la tumorigenesi di tipo ereditario sia diversa da quella 'sporadica'.

Non è giustificata l'escissione profilattica di tutte le moli, che va effettuata solo in seguito a variazioni apprezzabili secondo il follow-up descritto in dettaglio.

Guida pratica alla prevenzione e sorveglianza in soggetti con predisposizione allo sviluppo di melanoma cutaneo (Allegato 1)

(da "Consensus Statement of the Melanoma Genetics Consortium JCO, vol 17, 3245-51, 1999)

Ai membri delle famiglie a rischio va vivamente consigliato di:

- evitare assolutamente l'esposizione solare, pur in condizioni di protezione dalla radiazione ultravioletta, durante il periodo di maggiore irraggiamento considerato indicativamente dalle ore 11 alle ore 15.
- fare adeguato uso delle misure protettive dalla radiazione solare anche mediante indumenti, cappelli, occhiali e filtri protettivi ad ampio spettro A e B .

I genitori devono abituare ed educare in tale comportamento i propri figli.

A partire dall'età di dieci anni, i membri della famiglia a rischio dovrebbero sottoporsi ad una prima visita dermatologica con caratterizzazione documentata, possibilmente anche fotografica, degli eventuali nevi.

E' considerata particolarmente utile la fotografia dei nevi clinicamente atipici.

Si raccomanda quindi che un dermatologo esegua un esame esteso della cute ogni 6 mesi sino a che il paziente non sia giudicato competente all'autoesame cutaneo: è fondamentale che tali soggetti imparino ad eseguire correttamente l'auto-ossevizazione delle "macchie" per rendere più rapida la diagnosi e la eventuale rimozione. In tale senso si rivela spesso utile la valutazione del cambiamento di forma e dimensione della lesione pigmentata in base alle regole dell'ABCDE (Asimmetria, Bordi, Colore, Diametro, Evoluzione).

In seguito la visita di controllo può essere a cadenza annuale o anticipata in caso di necessità. Durante la pubertà e la gravidanza il controllo deve essere più frequente.

Le indicazioni per la asportazione chirurgica di lesioni pigmentate, in caso di modificazione sospetta, sono le stesse della popolazione generale. Si raccomanda comunque un'autovalutazione della cute o o un esame cutaneo da parte di un membro della famiglia o di un convivente con scadenza mensile.

E' auspicabile che l'albero genealogico della famiglia sia aggiornato ogni anno, generalmente mediante colloquio con un membro della famiglia che consenta ad assumersi tale incarico.

Valutazione dell'aspetto clinico dei nevi (Allegato 2)

Aspetto clinico	punteggio
≥ 100 nevi melanocitari ≥ 2 mm tra 20 -50 anni o ≥ 50 nevi melanocitari se < 20 e >50 anni	1
≥ 2 nevi melanocitari clinicamente atipici	1
≥ 1 nevi melanocitari natiche o ≥ 2 dorso piedi	1
nevi melanocitari parte anteriore cuoio capelluto	1
≥ 1 lesioni pigmentate iride ≥ 1 mm	1

(in assenza di un esame con lampada a fessura per differenziare una lentigo da un nevo)

Schema del percorso diagnostico-assistenziale del melanoma (allegato 3)

Le lesioni pigmentate vengono classificate in base ad alcune caratteristiche morfologiche che rispondono allo schema del cosiddetto *ABCDE*.

A = asimmetria della lesione

B = bordi della lesione

C = colore della lesione,

D = dimensioni superiori ai 6 mm.

E = evoluzione della lesione.

Il melanoma si distingue clinicamente in tre forme: melanoma piano, melanoma piano-nodulare e melanoma nodulare.

Melanoma Piano: rappresenta la variante più comune; può insorgere su cute e mucose con una certa predilezione per il dorso negli uomini e gli arti inferiori nelle donne. Le caratteristiche semeiotiche dell'ABCDE possono essere tutte rappresentate o manifestarsi solo parzialmente. Nella maggior parte dei casi appare come una lesione pigmentata di colore variabile, dal nero-bluastro al marrone scuro al marrone chiaro, con margini irregolari e frastagliati. In un secondo tempo le caratteristiche di atipia divengono più manifeste e l'anarchia strutturale più evidente; in questa fase il melanoma appare leggermente in rilievo (placca) e nel contesto della lesione possono essere presenti aree chiare o bruno-grigiastre di aspetto fibrotico.

Melanoma piano-nodulare: rappresenta la naturale evoluzione della forma piana ed è caratterizzato dalla comparsa di un elemento papulo-nodulare nell'ambito della lesione piana preesistente.

Melanoma nodulare: si manifesta sin dall'inizio come una lesione rilevata, nodulare, cupoliforme, di colorito rosso brunoastro, marrone o, in alcuni casi, acromica, talvolta ulcerata e rapidamente infiltrante. Nel caso del melanoma nodulare i criteri dell'ABCDE non sono significativi .

La diagnosi differenziale deve essere posta con alcuni nevi melanocitici ed alcune lesioni pigmentate non melanocitiche della cute: nevo blu, nevo di Spitz/Reed, dermatofibroma, angioma, cheratosi seborroica, carcinoma basocellulare pigmentato. Dal punto di vista diagnostico un utile ausilio alla diagnosi è fornito dalla microscopia in epiluminescenza (ELM). Tale metodica non invasiva facilita la diagnosi delle lesioni pigmentate cutanee e del melanoma in fase precoce e riduce la necessità di biopsie con riduzione dei falsi positivi. La

ELM costituisce un metodo d'esame complementare che si colloca tra la morfologia clinico-macroscopica e l'esame istologico delle lesioni pigmentate cutanee.

I parametri dermoscopic fondamentali per definire una lesione di natura melanocitica sono il reticolo pigmentario, i globuli marroni, le strie e la pigmentazione blu omogenea. Le diverse caratteristiche morfologiche e la diversa distribuzione di ciascun criterio all'interno della lesione consentono di differenziare le lesioni melanocitarie benigne dal melanoma. Il melanoma è caratterizzato da un reticolo pigmentato atipico (rete a maglie disomogenee e linee ispessite), punti/globuli irregolari, strie periferiche irregolari, velo bianco-blu, pattern vascolare polimorfo (vasi lineari irregolari e puntiformi).