PATHOLOGICA 2003;95:133-139

ARTICOLO ORIGINALE

Linfonodo sentinella nel melanoma cutaneo: l'esperienza nell'area fiorentina

Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the experience in the area of Florence

C. URSO, L. BORGOGNONI[1], L. VAGGELLI[2], A. GIANNINI, A. SALVADORI, E. ZINI, U.M. REALI

U.O. Anatomia Patologica, Sezione Dermatopatologia, Ospedale "S.M. Annunziata", Azienda Sanitaria di Firenze; [1] U. O. Chirurgia Plastica, Centro di Riferimento Regionale per la Terapia Chirurgica ed Immunologica del Melanoma, Ospedale "S.M. Annunziata", Azienda Sanitaria di Firenze; [2] U.O. Medicina Nucleare, Azienda Ospedaliera Careggi, Firenze

Parole chiave

Linfonodo sentinella • Melanoma • Metastasi

Key words

Sentinel lymph node • Melanoma • Metastasis

Riassunto

Nel periodo 1997-2001, presso l'Azienda Sanitaria di Firenze, sono stati studiati 466 linfonodi sentinella prelevati da 342 stazioni linfonodali in 322 pazienti con melanoma. I linfonodi sentinella sono identificati mediante linfoscintigrafia pre-operatoria con tracciante nano-colloidale marcato con tecnezio radioattivo, iniezioni intradermiche di colorante vitale e utilizzo di sonda scintigrafica intra-operatoria. Il gruppo di pazienti studiato è composto da 182 femmine e di 140 maschi. Il linfonodo sentinella era singolo nel 65,2% dei casi, duplice nel 27% e multiplo nel 7,8% dei pazienti. Su 322 pazienti, 61 sono risultati positivi per metastasi in uno o più linfonodi sentinella (18,9%). Le stazioni linfatiche esaminate positive erano 64 su 342 (18,7%), mentre i linfonodi sentinella contenenti metastasi di melanoma erano 73 (15,6%). Nessun linfonodo metastatico è trovato nei melanomi di spessore inferiore o uguale a 1 mm. Uno o più linfonodi sentinella erano positivi nel 7,5% dei pazienti con melanoma con spessore tra 1,01 e 1,50 mm, nel 27,7% dei melanomi tra 1,51 e 3,00 mm, nel 38,2% dei melanomi tra 3,01 e 4,00, e nel 60,7% dei pazienti con melanoma superiore a 4,00 mm. La biopsia estemporanea al congelatore, eseguita in 59 dei 61 pazienti positivi, ha rivelato metastasi linfonodali in 21 casi (35,6%). In 57 delle 64 stazioni linfatiche positive le metastasi erano identificate con le colorazioni di routine (ematossilina-eosina) e in 7 (11%) con l'ausilio di colorazioni immunoistochimiche (S100 e HMB-45). Nevi nodali sono stati trovati in 3/466 linfonodi sentinella (0,6%). I dati ottenuti sono analizzati e paragonati ai dati della recente letteratura. Sono discussi il valore della biopsia estemporanea e alcuni problemi interpretativi nella diagnosi delle micrometastasi di melanoma nel linfonodo sentinella. È sottolineata l'importanza della biopsia del linfonodo sentinella nella diagnosi delle metastasi linfonodali occulte nei pazienti con melanoma e nello *staging* dei pazienti, in accordo con la nuova classificazione TNM per il melanoma.

Summary

In the period 1997-2001, 466 sentinel lymph nodes from 342 lymphatic basins in 322 melanoma patients were examined at the Health Unit of Florence. The lymphatic mapping was performed through pre-operative lymphoscintigraphy using technetium-labelled nano-colloid, intradermal injections of vital blue dye and intra-operative gamma-probe. The examined patients were 182 females and 140 males. Sentinel lymph node was one in 65.2% of cases; two sentinel lymph nodes were detected in 27% of cases and more than 2 sentinel nodes were detected in 7.8% of cases. Melanoma metastases in one or more sentinel lymph nodes were found in 61/322 patients (18.9%). Lymphatic basins resulted to be involved by melanoma metastases were 64/342 (18.7%); sentinel lymph nodes containing metastatic melanoma deposits were 73/466 (15.6%). No metastasis was found in patients with melanoma thickness ≤ 1 mm. One or more positive sentinel lymph nodes were found in 7.5% of patients with melanoma thickness > 1.00 and ≤ 1.50 mm, in 27.7% of patients with melanoma > 1.50 and ≤ 3.00 mm, in 38.2% of patients with melanoma > 3.00 and ≤ 4.00, and in 60.7% of patients with melanoma > 4.00 mm. Frozen section analysis of sentinel lymph nodes, performed in 59/61 patients with nodal metastases, detected nodal involvement in 21 patients (35.6%). Metastases were identified by routine hematoxylin-eosin staining in 57/64 positive lymphatic basins; in 7 cases (11%) metastases were detected by immunohistochemical stainings (S100 and HMB-45). A nodal nevus was found in 3/466 sentinel lymph nodes (0.6%). Our data are analyzed and compared to previously data of the literature. The value of frozen section analysis and the major problems in the diagnosis of melanoma micrometastases in sentinel lymph nodes are discussed. The importance of the sentinel node biopsy for the detection of occult metastases and for the correct staging of melanoma patients are stressed, according to the new TNM melanoma classification.

Corrispondenza

Dott. C. Urso, Sezione Dermatopatologia, Ospedale "S.M. Annunziata", Azienda Sanitaria di Firenze, 50011 Antella, Firenze - Tel. +39 055 2496416 - Fax +39 055 417375 - E-mail: cylaur@tin.it

Introduzione

Il concetto di linfonodo sentinella, formulato nel 1960[1], si afferma sul piano operativo nell'ultimo decennio del secolo scorso[2], quando Morton et al. dimostrano che la combinazione della linfoscintigrafia preoperatoria con l'uso del colorante blu vitale consente con alta affidabilità e precisione l'individuazione, e quindi la successiva rimozione, del linfonodo sentinella nel melanoma cutaneo[2-5]. Il linfonodo sentinella, definito come il primo linfonodo che drena un determinato territorio cutaneo, sede della neoplasia primitiva, è quindi la prima struttura incontrata da eventuali cellule metastatiche lungo la via linfatica. Poiché nella maggioranza dei casi la diffusione delle cellule maligne sembra seguire una certa sequenzialità, il linfonodo sentinella è il primo linfonodo ad essere interessato in caso di metastatizzazione linfatica; i linfonodi a valle saranno interessati solo successivamente e quindi l'eventuale negatività del linfonodo sentinella depone per la negatività dell'intera stazione linfonodale. La biopsia del linfonodo sentinella risolve quindi definitivamente l'antico dilemma tra linfadenectomia profilattica ed il cosiddetto "*wait and see*" (controllo dei pazienti nel tempo e linfadenectomia regionale solo all'eventuale comparsa di metastasi linfonodali), perché consente di identificare precocemente un sottogruppo di pazienti con linfonodi positivi che potenzialmente può beneficiare dell'intervento chirurgico. L'identificazione anatomica del linfonodo sentinella è però solo il primo passo, perché, una volta isolata e rimossa questa struttura, occorre ricercare le eventuali cellule maligne. I pazienti sottoposti alla biopsia del linfonodo sentinella sono clinicamente negativi, e quindi in caso di positività spesso si trovano solo piccoli accumuli di cellule di melanoma, talora formati da pochissimi elementi cellulari, da identificare tra i miliardi di cellule che normalmente compongono il linfonodo. Uno studio istologico particolarmente accurato con l'uso complementare di metodiche immunoistochimiche e di biologia molecolare si è dimostrato tuttavia in grado di affrontare con successo il problema[6].

Materiali e metodi

Nel periodo giugno 1997 – dicembre 2001, 322 pazienti con melanoma cutaneo degli arti, del tronco e dell'estremo cefalico sono stati sottoposti alla biopsia del linfonodo sentinella presso l'Ospedale "S.M. Annunziata" dell'Azienda Sanitaria di Firenze. Nella maggioranza dei casi l'asportazione del melanoma primitivo è stata effettuata presso la U.O. di Chirurgia Plastica (Prof. U.M. Reali) contemporaneamente alla biopsia del linfonodo sentinella. Nei casi di dubbia diagnosi clinica e/o dermatoscopica di melanoma, si è proceduto a biopsia escissionale della lesione, eseguendo, dopo conferma diagnostica, la biopsia del linfonodo sentinella contemporaneamente all'eventuale ampliamento dell'asportazione della lesione primaria. Tale procedura è stata applicata anche ai casi in cui il melanoma primitivo era stato escisso e diagnosticato istologicamente in altri Centri. Nei casi operati nel nostro presidio ospedaliero la diagnosi istologica è stata effettuata presso la Sezione Dermatopatologia (Dott. C. Urso). Nei casi operati in altre sedi una revisione dei preparati istologici originali è stata effettuata solo se richiesta dal paziente, dal medico curante, dal dermatologo o dal chirurgo di riferimento, e i pazienti avviati all'intervento chirurgico dopo conferma diagnostica. I linfonodi sentinella sono stati identificati mediante linfoscintigrafia effettuata 18 ore prima dell'intervento chirurgico utilizzando tracciante nano-colloidale (Nanocoll – Nycomed-Amersham-Sorin) marcato con tecnezio radioattivo (99mTc-pertecnetato), iniezioni intradermiche peritumorali o peri-cicatriziali di colorante vitale (Patent Bleu, Laboratoire Guebert) al momento dell'intervento chirurgico e sonda scintigrafica per chirurgia radioguidata (Scinti-Probe – pol.hi.tech). Con l'eccezione di alcuni casi, tutti i linfonodi sentinella asportati sono stati inviati al laboratorio di istopatologia per l'esame estemporaneo al microtomo congelatore; in caso di positività si è proceduto alla linfadenectomia regionale nella stessa seduta operatoria. Per l'esame istologico estemporaneo ciascun linfonodo è sezionato lungo il maggior asse con un taglio equatoriale passante per l'ilo (Fig. 1). Da ciascuna delle due metà, opportunamente congelate a -25°C, sono ottenute 6-8 sezioni colorate con ematossilina-eosina e osservate direttamente al microscopio (Fig. 2). Per l'esame definitivo, tutti i linfonodi, sezionati longitudinalmente in fette parallele dello spessore di 2 mm, sono interamente inclusi in paraffina. Da ciascun blocchetto sono ottenute 12 sezioni consecutive, di cui 10 sono colorate con ematossilina-eosina e 2 sezioni non selezionate testate immunoistochimicamente con anticorpi verso la proteina S100 e l'HMB-45.

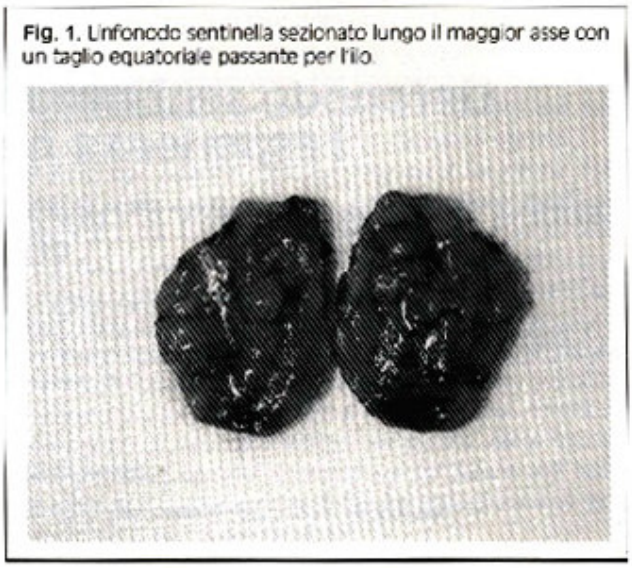
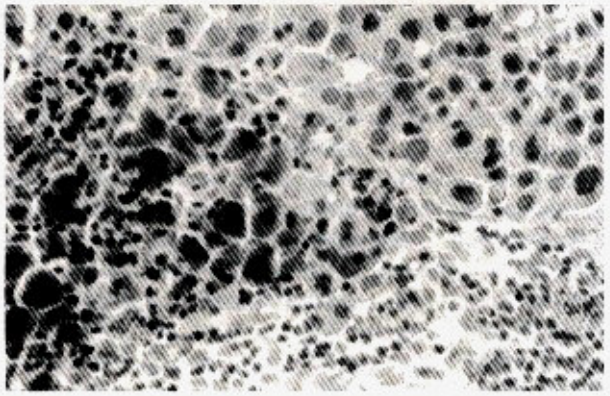


Fig. 1. Linfonodo sentinella sezionato lungo il maggior asse con un taglio equatoriale passante per l'ilo.

Fig. 2. Cellule di melanoma (in alto e a destra) e melanofagi (a sinistra e in basso) in linfonodo sentinella (criostato, E-E x400).



Risultati

Il gruppo di 322 pazienti studiato si compone di 182 femmine e 140 maschi, di età compresa tra 18 e 88 anni (media 55,2). In 210 pazienti (65,2%) il linfonodo sentinella era unico, in 87 pazienti (27,0%) i linfonodi sentinella erano due, in 21 (6,5%) erano tre e in 4 casi (1,3%) più di tre, per un numero totale di 466 linfonodi. Le sedi più frequenti erano inguinale (53,4%) e ascellare (39,8%) (Tab. I). Metastasi linfonodali (Fig. 3) in uno o più linfonodi sentinella sono state trovate in 61 dei 322 pazienti studiati (18,9%). Le stazioni linfonodali positive erano 64 su 342 (18,7%); i linfonodi sentinella positivi 73 su 466 (15,6%). L'analisi per istotipo dimostra una alta percentuale di metastasi linfonodali nei melanomi nodulari (42,2%) e nei melanomi acrali lentigginosi (20%), mentre i melanomi a diffusione superficiale, che rappresentavano la maggioranza dei melanomi (71,7%), mostrano metastasi linfonodali nel 12,5% dei casi (Tab. II). L'analisi per livello di Clark mostra nei 68 melanomi di II livello 1 caso positivo (1,5%), in un paziente con melanoma di spessore di poco superiore ad 1 mm (1,09 mm), 10 casi negli 89 melanomi III livello (11,2%), 35 casi nei 136 melanomi IV livello (25,7%) e 9 negli 11 melanomi V livello (81,8%) (Tab. III). L'analisi per spessore non dimostra metastasi linfonodali in 101 melanomi di spessore fino a 1 mm, mentre sono state trovate metastasi nel linfonodo sentinella nel 7,5% dei melanomi compresi tra 1,01 e 1,50 mm, nel 27,7% dei melanomi tra 1,51 e 3,00 mm, nel 38,2% dei melanomi tra 3,01 e 4,00 e nel 60,7% dei melanomi oltre 4 mm (Tab. IV). All'esame estemporaneo intraoperatorio eseguito in 59 dei 61 pazienti positivi, 21 sono risultati positivi (35,6%) e 38 negativi. Nelle 64 stazioni linfonodali positive, in 57 le cellule maligne erano diagnosticate sulle sezioni colorate con ematossilina-eosina (89,1%) e in 7 (10,9%) con l'ausilio delle colorazioni immuno-istochimiche. La linfadenectomia è stata eseguita in 53 su 61 pazienti con linfonodo sentinella positivo; 8 pazienti hanno rifiutato l'intervento chirurgico o si sono rivolti ad altra

Tab. I. Sede dei linfonodi sentinella in 322 pazienti con melanoma.

Sedi	*N*	*%*
Inguinale	172	53,4
Ascellare	128	39,8
Ascellare bilaterale	9	2,8
Inguinale e ascellare	7	2,2
Ascellare bilaterale e inguinale	2	0,6
Laterocervicale	4	1,2
Totale	322	100,0

Tab. II. Analisi per istotipo e stato del linfonodo sentinella in 322 pazienti con melanoma.

Istotipo	*Numero*	*N+*	*%*
SSM	231	29	12,5
NM	45	19	42,2
ALM	20	4	20,0
INCL	15	6	40,0
NAS	11	3	27,3
Totale	322	61	18,9

SSM = melanoma a diffusione superficiale; NM = melanoma nodulare; ALM = melanoma acrale lentigginoso; INCL = melanoma indassificabile; NAS = melanoma non altrimenti specificabile.

Tab. III. Analisi per livello di Clark e stato del linfonodo sentinella in 322 pazienti con melanoma.

Livelli	*Numero*	*N+*	*%*
II	68	1	1,5
III	89	10	11,2
IV	136	35	25,7
V	11	9	81,8
IGNOTO	18	6	33,3
Totale	322	61	18,9

Tab. IV. Analisi per spessore e stato del linfonodo sentinella in 322 pazienti con melanoma.

Spessore (mm)	*Numero*	*N+*	*%*
< 1,00	101	-	-
1,01-1,50	53	4	7,5
1,51-3,00	90	25	27,7
3,01-4,00	34	13	38,2
> 4,00	28	17	60,7
NAS	16	2	12,5
Totale	322	61	18,9

NAS = melanoma non altrimenti specificabile.

sede. Poiché 4 pazienti avevano linfonodi sentinella positivi in due stazioni linfonodali, le linfadenectomie totali eseguite sono state 57; in 8 di queste (14%) sono stati evidenziati ulteriori linfonodi positivi oltre ai linfonodi sentinella. Cellule neviche nei linfonodi (nevi nodali) sono state trovate in 3/466 linfonodi sentinella esaminati (0,6%) e in 3/322 pazienti (0,9%).

Discussione

Nella casistica presentata i pazienti con metastasi linfonodale sono 61 su 322 per una percentuale del 18,9%. Tale percentuale si colloca in posizione intermedia tra le percentuali ottenute in vari studi negli ultimi 4 anni [7-18], che oscillano tra l'11,9 e il 22% (Tab. V). Se si considerano i pazienti con melanoma di spessore superiore a 0,75 mm, la percentuale di casi positivi risulta del 24,5% e sale fino al 28,7% considerando i pazienti con melanoma di spessore superiore a 1,00 mm. La correlazione tra positività del linfonodo sentinella e spessore è molto evidente: 2,6% dei pazienti positivi con melanoma inferiore o uguale a 1,50 mm contro il 36,2% in quelli con melanoma sopra tale valore. Non si registrano casi positivi sotto il valore di 1,00 mm di spessore, mentre nei casi compresi tra 1,00 e 1,50 mm si è avuta una positività del 7,5%. Esaminando la letteratura su questo specifico punto si nota che a differenza di un recente studio di Bedrosian et al. [19] che registra il 5,6% di positività nei pazienti con melanoma di spessore inferiore a 1 mm, la nostra casistica non ha casi positivi nei melanomi sotto tale valore, ma registra una percentuale quasi doppia nei melanomi più spessi (28,7% contro 15,2%). Thompson riporta una percentuale di positività del 5% nei melanomi sotto lo spessore di 1,50 mm, del 14% nella classe di spessore 1,50-3,00 mm e del 24% oltre 3,00 mm [20]. I nostri valori per categorie corrispondenti sono più bassi per i melanomi di spessore inferiore a 1,50 mm (2,6%), ma molto più elevati per le altre, rispettivamente 27,7% e 48,4% (Tab. IV). Nei melanomi pT2 della vecchia classificazione TNM (0,76-1,50 mm), Caggiati et al. [9] trovano una percentuale di positività del 5.1%, molto vicina a quella ottenuta da noi nella stessa classe di spessore (4,5%); nei melanomi pT3a (1,51-3,00 mm) e in quelli pT3b (3,00-4,00 mm), gli autori tuttavia ottengono percentuali, rispettivamente, del 19,6% e del 29%, che appaiono inferiori ai nostri dati (rispettivamente 27,7% e 38,2% nelle stesse classi di spessori) (Tab. IV). In riferimento alle stazioni linfonodali i dati della nostra casistica si pongono ancora in posizione intermedia (18,7%) tra il 17,2% di Wagner et al. [12] e il 19,6% di Morton et al. [2]. Considerando i linfonodi, la percentuale di positività ottenuta in questo studio (15,6%) risulta molto vicina a quello di Lenisa et al. (15%) [21] e intermedia rispetto ai dati degli altri studi che oscillano tra l'11 e il 18% [2 8 11 22]. I motivi che possono essere invocati per queste diversità possono riguardare principalmente il protocollo metodologico adottato (numero di inclusioni, numero di sezioni esaminate, uso di reazioni immunoistochimiche). L'immunoistochimica (S100, HMB-45, MART-1 etc.) ha infatti un ruolo importante nel potenziare l'attività diagnostica delle micrometastasi nei linfonodi sentinella (Fig. 4) [6 23-26]. Nel presente studio tuttavia la percentuale di casi diagnosticata con apporto determinante dell'immunoistochimica è relativamente bassa, attorno al 11%, a fronte di percentuali quasi doppie di altri studi [8]. L'apporto immunoistochimico pare potersi rapportare inversamente al numero di sezioni esaminate, nel senso che più è alto il numero di sezioni e meno sembrano incidere le colorazioni immunoistochimiche, che possono dunque essere riservate ai soli casi negativi alle colorazioni di routine. Le colorazioni immunoistochimiche sembrano invece essere decisive in presenza di piccolissimi aggregati di cellule di melanoma o di singole cellule maligne che possono non essere individuate anche dopo accurato esame nelle sezioni standard (ematossilina-eosina). Le tecniche istologiche e immunoistochimiche si lasciano tut-

Tab. V. Percentuali di positività alla biopsia del linfonodo sentinella in melanoma in alcuni studi recenti.

Autore	*Anno*	*%*
Belli et al. [7]	1998	16,4
Riccioni et al. [8]	1999	15,0
Caggiati et al. [9]	2000	14,7
Landi et al. [10]	2000	16,7
Pizzocaro et al. [11]	2000	13,0
Wagner et al. [12]	2000	20,1
Tremblay et al. [13]	2001	22,0
Clary et al. [14]	2001	17,0
Cascinelli et al. [15]	2001	13,7
Nguyen et al. [16]	2001	20,0
Harlow et al. [17]	2001	11,9
Covarelli et al. [18]	2002	17,2
Presente studio		18,9

Fig. 3. Metastasi di melanoma in linfonodo sentinella (E-E x200).

tavia sfuggire una piccola percentuale di casi positivi, che possono essere individuati con tecniche più sofisticate di biologia molecolare (RT-PCR) per la ricerca di *markers* specifici (mRNA della tirosinasi, MART-1, MAGE1, MAGE3, MIA) su tessuto fresco e ora anche su materiale incluso in paraffina [25-29]. I pazienti che risultano positivi alla PCR mostrano diminuzione dell'intervallo libero di malattia e diminuzione della percentuale di sopravvivenza [30], tuttavia, se negativi alla istologia e alla immunoistochimica, non sono sottoposti a linfadenectomia, ma seguiti con stretto follow-up [22]. La maggioranza delle metastasi di melanoma nel linfonodo sentinella sono localizzate in sede subcapsulare (Fig. 4), nel seno marginale del linfonodo e anche nei seni lungo i setti; una minoranza di linfonodi mostra metastasi nella paracorticale o nella parte centrale del linfonodo. Accanto a casi in cui l'esame istologico mostra evidenti depositi metastatici, spesso le raccolte di cellule maligne sono piccole, talora formate da poche cellule. Non esiste tuttavia un criterio accettato per classificare le metastasi linfonodali di melanoma, come si fa correntemente ad esempio per il carcinoma della mammella. Alcuni autori hanno usato il termine di micrometastasi, ma purtroppo senza una precisa definizione clinico-istologica [8]. In un recente studio la *American Joint Committee on Cancer* ha stabilito che tutte le metastasi trovate con la metodica del linfonodo sentinella in linfonodi clinicamente negativi sono da considerarsi come micrometastasi, mentre macrometastasi sono da considerarsi quelle trovate in linfonodi clinicamente positivi [31]. In attesa quindi di migliori definizioni conviene attenersi a questa impostazione, che è quella da seguire per la nuova classificazione TNM del melanoma. Lo studio citato dimostra anche l'importanza prognostica del numero di linfonodi coinvolti, piuttosto che delle dimensioni linfonodali [31]. Recenti studi tuttavia sembrano dimostrare che anche il numero di cellule metastatiche e le dimensioni delle metastasi abbiano effettivo valore prognostico. Starz et al., basandosi sul numero di sezioni positive in ciascun linfonodo (n) e sulla profondità di invasione delle cellule maligne, misurata a partire dal margine interno della capsula linfonodale (d), hanno proposto un sistema di *microstaging* morfometrico dei pazienti. I casi sono classificati come S0 (linfonodo sentinella negativo), S1, S2, e S3. Nel loro studio i pazienti S1 ($n \leq 2$, $d \leq 1$ mm) non hanno mostrato metastasi in altri linfonodi oltre il linfonodo sentinella; i pazienti S2 ($n > 2$; $d \leq 1$ mm) hanno mostrato metastasi nel 15% dei casi e i pazienti S3 ($d > 1$ mm) nel 60% dei casi [32].

L'esame estemporaneo si è rivelato utile in una parte dei pazienti. Nei pazienti con metastasi linfonodale è stato possibile porre la diagnosi in sede intraoperatoria ed effettuare la necessaria linfadenectomia nella stessa seduta chirurgica nel 35,6% dei casi, evitando una nuova anestesia generale e un nuovo intervento a 21 pazienti. La sensibilità della biopsia estemporanea risulta quindi del 35,6%, simile a quella del 38% recentemente ottenuta da Koopal et al. [33] e un poco inferiore a quelle riportate da altri [34-36]. Il fattore maggiormente imputabile per la bassa sensibilità dell'esame estemporaneo rispetto a quello definitivo è la bassa qualità delle sezioni al criostato rispetto ai preparati dopo inclusione, soprattutto nei casi di linfonodi con metaplasia adiposa e fibrosi, che sono piuttosto frequenti nelle sedi ascellare e inguinale; la prima infatti rende difficile ottenere delle sezioni complete e leggibili anche con congela-

Fig. 4. Cellule di melanoma positive per HMB-45 in sede subcapsulare (ABC x400).

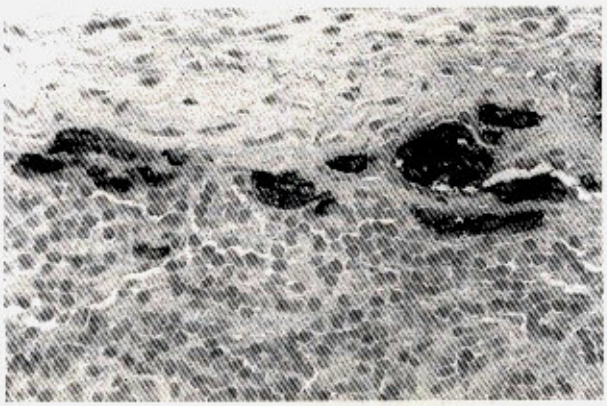
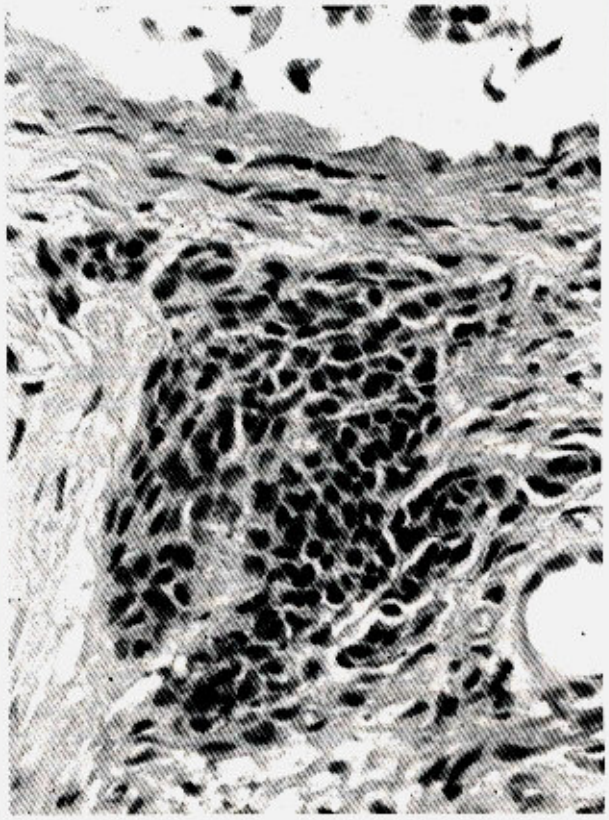


Fig. 5. Nevo nodale: cellule neviche nello spessore della capsula linfonodale (E-E x400).



mento sotto i -30°C, la seconda, specie se associata alla prima, crea sulla superficie di taglio aree a consistenza differente, che rendono difficile ottenere sezioni di buona qualità per il collasso della fetta sulla lama, prima della raccolta sul vetrino. Un altro elemento che potenzialmente può influire negativamente è il limitato numero di sezioni esaminate, nella preoccupazione di non consumare troppo materiale per non inficiare così l'esame definitivo. La scarsa sensibilità dell'esame estemporaneo conduce alcuni autori a sconsigliarne l'uso [33 35 36]. Se si considera però l'alta specificità del metodo (non vi sono praticamente falsi positivi), la relativa facilità di esecuzione e la possibilità di una parte non trascurabile dei pazienti di evitare in caso di positività un successivo intervento, la biopsia estemporanea nel linfonodo sentinella appare particolarmente vantaggiosa e senza rischio.

I maggiori problemi interpretativi nella diagnostica delle metastasi nel linfonodo sentinella sono legati in primo luogo agli istiociti, che, localizzati nel seno marginale, in posizione subcapsulare, si possono confondere con le cellule di melanoma. Ulteriore fattore potenzialmente fuorviante trattandosi di una ricerca di cellule di un tumore pigmentato è la relativamente frequente pigmentazione (melanina, ferro, carbone). Gli istiociti però possono essere correttamene identificati per le loro caratteristiche citologiche (citoplasma abbondante, nucleo relativamente piccolo, non atipico e normocromatico con piccolo nucleolo) e immunoistochimiche (negatività alla proteina S100 e all'HMB45). Altre cellule di problematica valutazione sono i melanociti benigni dei nevi nodali (Fig. 5). Nella nostra casistica la percentuale di tali lesioni nei linfonodi sentinella esaminati è dello 0,6%, inferiore a quella trovata nei linfonodi sentinella in altri studi (Carson et al. [37]: 3,9%; Riccioni et al. [8]: 1,5%) e simile a quelle trovate nei linfonodi non sentinella (0,1-1%) [37-39]. I melanociti benigni si trovano inclusi nello spessore della capsula e dei setti, piuttosto che in posizione subcapsulare o nel seno marginale, hanno aspetto uniforme e monomorfo con scarso citoplasma, nuclei non ipercromatici e assenza di nucleoli evidenti. Immunoistochimicamente le cellule neviche reagiscono con la proteina S100, come le cellule di melanoma, ma, con l'eccezione per quelle del nevo blu nodale, sono negative all'HMB-45. Nel linfonodo infine si osservano altre cellule S100 positive, come le cellule interdigitate dendritiche, che tuttavia mostrano morfologia peculiare, nuclei poco visibili e non atipici e negatività all'HMB-45. Nella nuova classificazione TNM del melanoma cutaneo, in vigore dal 2002, la valutazione del linfonodo sentinella nei pazienti con melanoma cutaneo diventa obbligatoria, con l'eccezione dei casi non ulcerati di spessore inferiore ad 1 mm che non superano il III livello di Clark [31]. Questa metodica, quindi, diventa indispensabile per la corretta stadiazione clinico-patologica dei pazienti.

Bibliografia

1. Gould EA, Winship T, Philbin PH, Hyland Kerr H. *Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid.* Cancer 1960;13:77-8.
2. Morton DL, Wen D-R, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. *Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma.* Arch Surg 1992;127:392-9.
3. Morton DL, Wen D-R, Cochran AJ. *Intraoperative lymphatic mapping for early-stage melanoma.* The Melanoma Letter 1992;10:1-4.
4. Morton DL, Wen D-R, Cochran AJ. *Managment of early-stage melanoma by intraoperative lymphatic mapping and selective lymphadenectomy or "watch and wait".* Surg Oncol Clin North Am 1992;1:247-59.
5. Morton DL, Wen D-R, Foshag LJ, Essner R, Cochran A. *Intraoperative lymphatic mapping and selected cervical lymphadenectomy for early stage melanoma of head and neck.* J Clin Oncol 1993;11:1751-6.
6. Cochran AJ, Morton DL, Wen D-R. *Occult tumor cells in lymph nodes of patients with pathological stage I malignant melanoma. An immunoistochemical study.* Am J Surg Pathol 1988;12:612-8.
7. Belli F, Lenisa L, Clemente C, Tragni G, Mascheroni L, Gallino G, et al. *Sentinel node biopsy and selective dissection for melanoma nodal metastases.* Tumori 1998;84:24-8.
8. Riccioni L, Morigi F, Naldi S, Polverelli M, Morelli R, Fiscelli O, et al. *Studio anatomo-patologico del linfonodo sentinella nei melanomi. Analisi di 200 casi.* Pathologica 1999;91:242-8.
9. Caggiati A, Potenza C, Gabrielli F, Passarelli F, Tartaglione G. *Sentinel node biopsy for melanoma: analysis of a four-year experience.* Tumori 2000;86:332-5.
10. Landi G, Polverelli M, Moscatelli G, Morelli R, Landi C, Fiscelli O, et al. *Sentinel lymph node biopsy in patients with primary cutaneous melanoma: study of 455 cases.* J Eur Acad Dermatol Venereol 2000;14:35-45.
11. Pizzocaro C, Rossini PL, Magri GC, Manca G, Caglioni C, Manganoni MA, et al. *Sentinel node biopsy in melanoma: the experience of Brescia Civic Hospital.* Tumori 2002;86:349-50.
12. Wagner JD, Corbett L, Park HM, Davidson D, Coleman JJ, Havlik RJ, et al. *Sentinel lymph node biopsy for melanoma: experience with 234 consecutive procedures.* Plast Reconstr Surg 2000;105:1956-66.
13. Tremblay F, Louffi A, Shibata H, Meterissian S. *Sentinel lymph-node biopsy for melanoma of the trunk and extremities: the McGill experience.* Can J Surg 2001;44:428-31.
14. Clary BM, Brady MS, Lewis JJ, Coit DG. *Sentinel lymph node biopsy in the managment of patients with primary cutaneous melanoma: review of a large single-institutional experience with emphasis on recurrence.* Ann Surg 2001;233:250-8.
15. Cascinelli N, Clemente C, Bifulco C, Tragni G, Morabito A, Santinami M, et al. *Do patients with tumor-positive sentinel lymph nodes constitute a homogeneous group?* Ann Surg Oncol 2001;8(Suppl 9):35S-37S.
16. Nguyen CL, McClay EF, Cole DJ, O'Brien PH, Gillanders WE, Metcalf JS, et al. *Melanoma thickness and histology predict sentinel lymph node status.* Am J Surg 2001;181:8-11.
17. Harlow SP, Krag DN, Ashikaga T, Weaver DL, Meijer SJ, Loggie BW, et al. *Gamma probe guided biopsy of the sentinel node in malignant melanoma: a multicentre study.* Melanoma Res 2001;11:45-55.
18. Covarelli P, Tomassini GM, Messina S, Sidoni A, Cristofani R, Bartoli A. *Biopsia del linfonodo sentinella nello staging dei pazienti con melanoma maligno.* Chir Ital 2002;54:213-8.
19. Bedrosian I, Faries MB, Guerry D 4th, Elenitsas R, Schuchter L,

Mick R, et al. *Incidence of sentinel node metastasis in patients with thin primary melanoma (≤ 1 mm) with vertical growth phase*. Ann Surg Oncol 2000;7:262-7.

[20] Thompson JF. *The Sidney Melanoma Unit experience of sentinel lymphadenectomy for melanoma*. Ann Surg Oncol 2001;8(Suppl. 9):44S-47S.

[21] Lenisa L, Santinami M, Belli F, Clemente C, Mascheroni L, Patuzzo R, et al. *Sentinel node biopsy and selective lymph node dissection in cutaneous melanoma patients*. J Exp Clin Cancer Res 1999;18:69-74.

[22] Boi S, Cristofolini P, Togni R, Girlando S, Camerani M, Donner D, et al. *Detection of nodal micrometastases using immunohistochemistry and PCR in melanoma of the arm and trunk*. Melanoma Res 2002;12:147-53.

[23] Baisden BL, Askin FB, Lange JR, Westra WH. *HMB-45 immunohistochemical staining of sentinel lymph nodes: a specific method for enhancing detection of micrometastases in patients with melanoma*. Am J Surg Pathol 2000;24:1140-6.

[24] Shidham VB, Qi DY, Acker S, Kampalath B, Chang CC, George V, et al. *Evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma: higher diagnostic accuracy with Melan-A and MART-1 compared with S-100 protein and HMB-45*. Am J Surg Pathol 2001;25:1039-46.

[25] Bostick PJ, Morton DL, Turner RR, Huynh KT, Wang HJ, Elashoff R, et al. *Prognostic significance of occult metastases detected by sentinel lymphadenectomy and reverse transcriptase-polymerase chain reaction in early-stage melanoma patients*. J Clin Oncol 1999;17:3238-44.

[26] Palmieri G, Ascierto PA, Cossu A, Mozzillo N, Motti ML, Satriano SM, et al. *Detection of occult melanoma cells in paraffin-embedded histologically negative sentinel lymph nodded using a transcriptase polymerase chain reaction assay*. J Clin Oncol 2001;19:1437-43.

[27] Blaheta HJ, Schittek B, Breuninger H, Garbe C. *Detection of micrometastasis in sentinel lymph nodes of patients with primary cutaneous melanoma*. Recent Results Cancer Res 2001;158:137-46.

[28] Bonin S, Niccolini B, Calacione R, Gambardella B, Geatti O, Stanta G, et al. *Molecular analyses of sentinel lymph nodes: an open question*. J Eur Acad Dermatol Venereol 2002;16:34-9.

[29] Riccioni L, Farabegoli P, Nanni O, Morigi F, Polverelli M, Landi G, et al. *Il linfonodo sentinella nel melanoma: utilizzo della biologia molecolare (RT-PCR) nella ricerca delle metastasi occulte*. Pathologica 2002;94:190-5.

[30] Shivers SC, Wang X, Li W, Joseph E, Messina J, Glass LF, et al. *Molecular staging of malignant melanoma: correlation with clinical outcome*. JAMA 1998;280:1410-5.

[31] Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, et al. *Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma*. J Clin Oncol 2001;19:3635-48.

[32] Starz H, Balda B-R, Kramer KU, Buchels H, Wang H. *A micromorphometric-based concept for routine classification of sentinel lymph node metastases and its clinical reelvance for patients with melanoma*. Cancer 2001;91:2110-21.

[33] Koopal SA, Tiebosch AT, Albertus Piers D, Plukker JT, Schrafford Koops H, Hoekstra HJ. *Frozen section analysis of sentinel lymph nodes in melanoma patients*. Cancer 2000;89:1720-5.

[34] Cascinelli N, Belli F, Santinami M, Fait V, Testori A, Ruka W, et al. *Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the WHO Melanoma Program experience*. Ann Surg Oncol 2000;7:469-74.

[35] Tanis PJ, Boom RP, Koops HS, Faneyte IF, Peterse JL, Nieweg OE, et al. *Frozen section investigation of the sentinel node in malignant melanoma and breast cancer*. Ann Surg Oncol 2001;8:222-6.

[36] Stojadinovic A, Allen PJ, Clary BM, Busam KJ, Coit DG. *Value of frozen-section analysis of sentinel lymph nodes for primary cutaneous malignant melanoma*. Ann Surg 2002;235:92-8.

[37] Carson KF, Wen DR, Li PX, Lana AM, Bailly C, Morton DL, et al. *Nodal nevi and cutaneous melanomas*. Am J Surg Pathol 1996;20:834-40.

[38] Ridolfi RL, Rosen PP, Thaler H. *Nevus cell aggregates associated with lymph nodes: estimated frequency and clinical significance*. Cancer 1977;39:164-71.

[39] Bautista NC, Cohen S, Anders KH. *Benign melanocytic nevus cells in axillary lymph nodes. A prospective incidence and immunohistochemical study with literature review*. Am J Clin Pathol 1994;102:102-8.