



Allegato 4 : Percorso diagnostico anatomo-patologico del mesotelioma

A cura del Gruppo di Studio tumori delle sierose
Rete Oncologica Piemonte e Valle d'Aosta

Partecipanti: Prof. Mauro Papotti, Prof. Luisella Righi, Dr.ssa Paola Re, Dr.ssa Paola Barbieri, Dr.ssa Poliana Santos Pereira, Dr. Adolfo Suriani, Dr.ssa Luisa Delsedime, Dr.ssa Giorgia Andrea Impala, Dr.ssa Denisa Filip, Dr.ssa Donata Bellis.

Anno di pubblicazione 2023

Obiettivi individuati:

1. **Algoritmo diagnostico-immunoistochimico per la diagnosi di mesotelioma**
2. **Modello condiviso di refertazione**
3. **Definizione dei tempi ottimali e tempi massimi di refertazione per patologia (indicando sia i tempi di diagnosi istologica standard**

Le riunioni hanno coinvolto anatomopatologi dedicati o in formazione interessati alla patologia delle sierose e si sono svolte al microscopio multiplo con condivisione di casi della routine particolarmente interessanti per le caratteristiche morfologiche, immunofenotipiche o molecolari e/o per il loro difficile inquadramento diagnostico; tutti i partecipanti hanno contribuito con i casi provenienti dalle varie strutture del territorio.

La condivisione dei numerosi casi valutati ha stimolato la discussione e ha indirizzato alla integrazione con presentazioni sistematiche con apporti dalla letteratura recente, focalizzate alle tematiche più critiche individuate.

In sintesi queste possono essere riassunte nel seguente elenco:

- Benigno vs maligno: diagnosi differenziali.
- Mesotelioma in situ.
- Diagnosi citologica
- Istotipo Epitelioide: pattern architetturali e varianti citologiche
- Pattern transizionale: criteri morfologici, istochimici ed immunofenotipici
- Sistemi di Grading dell'Istotipo Epitelioide
- Istotipo Sarcomatoide: diagnosi differenziali con neoplasie parete toracica e d.d. con i pattern transizionali.
- Marcatori Immunoistochimici.
- Marker Molecolari.
- Proposta di Check-list di Refertazione ed eventuale giudizio di livello di confidenza della diagnosi effettuata.

Il mesotelioma pleurico (MP) è una neoplasia che presenta una vastissima eterogeneità. Ogni istotipo presenta le proprie criticità diagnostiche e di diagnosi differenziali. La diagnosi si raggiunge integrando le notizie cliniche, il quadro clinico, il reperto istologico morfologico e il profilo immunofenotipico.

Essendo il mesotelioma una neoplasia dovuta all'esposizione all'asbesto e con una latenza dall'esposizione anche di + 40 anni, le notizie cliniche più importanti e utili per la diagnosi sono l'attività lavorativa presente o pregressa (che può aver portato ad una esposizione professionale) e l'esposizione ambientale all'asbesto.

Dal punto di vista clinico, la presentazione è in genere tipica, costituita da versamento pleurico + mammellonature pleuriche all'imaging. Tuttavia tale presentazione, oltre ad essere caratteristica anche di altre neoplasie (soprattutto metastatiche alla parete toracica), può anche variare da caso a caso con alcune sfumature che rendono il quadro clinico talora sospetto ma non del tutto indicativo di mesotelioma.

L'esame istologico è quindi mandatorio per una diagnosi definitiva. Questo può avvenire su diversi tipi di materiali: esame del liquido pleurico (citologico), agobiopsia (piccolo istologico), biopsia pleurica chirurgica (gold standard), pleurectomia (in genere secondaria a diagnosi già nota). A seconda del materiale che si ha a disposizione varia la probabilità di partenza di avere una diagnosi confidente. La confidenza diagnostica varia poi in base al caso singolo che può presentare caratteristiche morfologiche ed immunofenotipiche convenzionali, più rare o anche aberranti. Secondo le linee guida la diagnosi del mesotelioma si ottiene attraverso una analisi morfologica e sempre in aggiunta la presenza di almeno 2 marcatori immunofenotipici positivi per linea mesoteliale e due negativi per altra diagnosi.

MESOTELIOMA EPITELIOIDE

Il mesotelioma pleurico epitelioide (MPE) è l'istotipo più diffuso. Costituisce circa il 70-90% di tutti i mesoteliomi diffusi.

Le sue principali criticità sono: Grading, diagnosi differenziali con carcinomi di varia origine.

Il mesotelioma epitelioide ha una vasta variabilità morfologica. Nell'ultima classificazione OMS sono descritti alcune delle varianti morfologiche più importanti per la prognosi, che possono mostrare variabilità anche citologica. È diventato però importante, ai fini prognostici descrivere la presenza di queste varianti ponendo attenzione a quella più rappresentata. Per ora non ci sono indicazioni sul riportare la % di rappresentatività, come nel carcinoma del polmone (da verificare). Inoltre anche la presenza di stroma mixoide in >50% del campione definisce una prognosi migliore.

Grading: nell'ultima classificazione dell'OMS 2021 è stato approvato il sistema di grading che prevede la valutazione del grado (atipia) nucleare, del numero di mitosi ($\times 2 \text{ mm}^2$) e la presenza di necrosi. In base a questo sistema si distinguono mesoteliomi di basso o alto grado. Altri parametri valutati in passato, quali la

presenza del nucleolo, il pleomorfismo, l'indice Ki67, non sono stati considerati significativi per la determinazione del grado. Tale sistema si applica solo all'istotipo epitelioide.

Recentemente è stato proposto un sistema di grading integrato che stabilisce degli score anche a parametri quali l'età, il tipo istologico, e la perdita immunositochimica di BAP1.

La seconda criticità del MPE sta nella sua somiglianza morfologica e spesso sovrapposizione immunofenotipica con una vasta tipologia di carcinomi che possono dare localizzazioni note o occulte alla pleura e conseguente versamento pleurico.

Può accadere che alcuni marcatori mesoteliali siano negativi o con una positività dubbia e anche i marcatori per i carcinomi risultino negativi. Talora la morfologia può essere simile a neoplasie non mesoteliali e solo un pannello immunoistochimico corretto può essere diagnostico. Per esempio in caso di una diagnosi differenziale con una metastasi da carcinoma della mammella o con un carcinoma sieroso ovarico, i pannelli e i risultati possono essere molto sovrapponibili e non portare ad una diagnosi conclusiva. Gli algoritmi immunofenotipici che si trovano nelle Linee guida di Husain 2017 sono una indicazione per la scelta dei marcatori immunoistochimici più probabilmente espressi in base al contesto del caso (quadro clinico/radiologico/esclusione di altra neoplasia pregressa o concomitante).

AZIONE DA INTRAPRENDERE: *in seguito a morfologia epitelioide riconosciuta, si associ la determinazione di 2 marcatori di linea mesoteliale insieme a 2 marcatori di linea epiteliale (a seconda del quadro clinico), e la definizione del Grading sec WHO 2021.*

DESIDERABILE: *anche la determinazione della status di BAP1 e di MTAP con immunoistochimica.*

MESOTELIOMA IN SITU

Nell'ultima edizione della OMS 2021 è stata introdotta l'entità del mesotelioma in situ (Mis). Questa è definita come una proliferazione monostratificata di cellule mesoteliali con nessuna o scarse atipie che non presenta segni di invasività, ma mostra negatività immunoistochimica alle colorazioni BAP1 ed MTAP. Tale lesione può morfologicamente andare in diagnosi differenziale con l'iperplasia mesoteliale atipica o a una proliferazione mesoteliale reattiva senza atipie. La diagnosi quindi non può essere fatta sulla base della sola morfologia e deve essere corredata di un quadro clinico ben preciso caratterizzato da versamento pleurico recidivante in assenza di immagini sospette all'imaging né alla toracosopia.

IMMUNOISTOCHEMICA DI BAP1/MTAP

Il BRCA Associated Protein 1 (BAP1) è un gene oncosoppressore che codifica per una proteina ubiquitaria che è espressa nel nucleo di tutte le cellule. Negli ultimi anni BAP1 è risultato uno dei geni più alterati nel mesotelioma, soprattutto epitelioide, insieme a CDKN2A e NF2. La perdita immunoistochimica di BAP1 è descritta come predittiva dell'alterazione molecolare. Si può quindi affermare, con una certa significatività, che una cellula mesoteliale BAP1 negativa è una cellula neoplastica.

Il Methyl-Tio-Adenosin Phosforilasi (MTAP) è un gene localizzato sul cromosoma adiacente al gene CDKN2A. Quest'ultimo nel mesotelioma epitelioide è frequentemente alterato per delezione ampia o totale. Si è dimostrato che durante tali delezioni anche il materiale genico che comprendente MTAP viene perso, risultando così in una specifica perdita della proteina. La negatività immunoistochimica di MTAP è pertanto un surrogato della delezione di CDKN2A.

Tali proprietà sopradescritte di questi due geni fanno sì che ne derivi una importante utilità diagnostica: la perdita nucleare di BAP1 o quella citoplasmatica di MTAP in cellule mesoteliali definiscono con una buona specificità la diagnosi di mesotelioma. Questo si rivela particolarmente utile in campioni citologici in cui la presenza di cellule mesoteliali atipiche, senza la possibilità di esaminarne la capacità invasiva, può consentire una diagnosi in caso di negatività di BAP1 o MTAP; oppure in campioni istologici la negatività di BAP1 associata alla positività dei marcatori mesoteliali permette di raggiungere una ottima confidenza diagnostica.

AZIONE DA INTRAPRENDERE: *in caso di sospetto di mesotelioma in situ (biopsia pleurica costituita da monostrato di cellule mesoteliali), eseguire sempre la determinazione di BAP1 e MTAP con immunoistochimica per indagarne la possibile diagnosi.*

MESOTELIOMA NON EPITELIOIDE (SARCOMATOIDE, TRANSIZIONALE, BIFASICO)

Il MP non epitelioide costituisce circa il 25% (il sarcomatoide costituisce solo il 10% di tutti i mesoteliomi diffusi) circa dei casi.

Le sue principali criticità sono: inquadramento diagnostico morfologico e immunoistochimico.

L'istotipo sarcomatoide puro è caratterizzato da cellule chiaramente fusate, in genere non pone grosse difficoltà diagnostiche e va in diagnosi differenziale con i sarcomi della parete toracica (primo fra tutti il sinovialsarcoma monofasico) che sono molto rari.

Il MP bifasico è costituito dalla presenza di una componente chiaramente epitelioidale associata in varia quantità da una sarcomatoide. Una difficoltà in questo caso può essere quella di differenziare uno stroma atipico reattivo da una componente stromale neoplastica e quindi sarcomatosa.

Il MP transizionale è un sottotipo recentemente descritto caratterizzato dalla presenza di cellule non chiaramente fuse, di grado nucleare elevato, con bordi cellulari marcati, che si pone a metà strada tra la morfologia epitelioidale e quella sarcomatosa.

I marcatori immunoistochimici di linea mesoteliale più comunemente espressi (Calretinina, WT1, D240) sono invece in genere negativi e l'unica positività è data dalla PanCK. GATA3 è un marcatore recentemente descritto nel mesotelioma epitelioidale che può aiutare nella diagnosi ma non la definisce in prima istanza. L'utilizzo del CD99 in questi casi è discusso.

AZIONE DA INTRAPRENDERE: in caso di riconoscimento di morfologia non epitelioidale, eseguire come primo step marcatori generici come PanCK, GATA3, colorazione per il reticolo e altri marcatori per escludere neoplasie mesenchimali.

REFERTAZIONE

Visti gli studi sempre più dettagliati sul mesotelioma e anche le ultime novità terapeutiche, è mandatorio che il referto di mesotelioma comprenda una diagnosi di istotipo ed è raccomandato che si utilizzi una check-list che descriva alcune delle principali caratteristiche morfologiche presenti. Il profilo immunofenotipico oltre ai 2 marcatori positivi e 2 negativi come richiesto dalle linee guida, dovrebbe avere anche lo stato di BAP1 e di MTAP. Il Grading sec WHO 2021 è raccomandato, quello sec Fuchs facoltativo.

Stilare una check list condivisa da usare nel referto per ogni caso, tenendo conto del modello di refertazione che SIAPEC propone in accordo con ICCR.

Esempio di check list:

Diagnosi: MESOTELIOMA @EPITELIOIDE DIFFUSO; @SARCOMATOIDE, @BIFASICO.

Pattern di crescita:

Per l'istotipo epitelioidale: @tubulo-papillare; @trabecolare; @adenomatoide; @solido, @micropapillare

Per l'istotipo sarcomatoide: Aspetti citologici: linfoistiocitoidi/transizionali/pleomorfi. Stroma: desmoplastico/Con differenziazione eterologa.

Aspetti cellulari: @cellule chiare; @rabboidi; @deciduoidi,

Stroma mixoide: @presente in ><50% della tessuto neoplastico; @assente

Componente in situ: @presente (BAP negativa); @assente

Per l'istotipo epitelioidale: Grado tumorale (sec WHO 2021): @BASSO GRADO** ; @ALTO GRADO

Necrosi: @assente; @presente

Grado nucleare: score atipia nucleare: 1, 2, 3 (lieve, moderata, alta) + score mitosi: 1, 2, 3 (0/1, 2-4, >=5/2mm²)

G1: score totale 2-3; G2: score totale 4-5; G3: score totale 6

Grado tumorale: Basso (G1 e G2 senza necrosi) Alto (G2 con necrosi e G3 con o senza necrosi)

AZIONE DA INTRAPRENDERE: utilizzo di check list diagnostiche che comprendano i rilevanti dati anamnestici, isto-cito-patologici, immunofenotipici.

Fare segnalazione o denuncia di patologia professionale a seconda delle modalità stabilite in ciascuna Azienda.

I tempi di refertazione su materiale biotico (ago biopsia o biopsia chirurgica) di prima diagnosi sono attesi tra i 7 e i 15 gg lavorativi.

DESIDERABILE: valutazione collegiale dei casi.

Punti importanti da sottolineare sono:

- In rarissimi casi **non è possibile una diagnosi di certezza**. In questi casi è utile dare una indicazione di “sospetto”, o “indicativo in prima istanza di” e consigliare in caso di decesso di eseguire un riscontro autoptico per l'accertamento della diagnosi ai fini soprattutto medico legali e di indennizzo.
- La diagnosi deve **sempre essere contestualizzata** con il quadro clinico/radiologico/anamnestico e non va fatta in senso assoluto, non sono perciò necessari dei marcatori organo-specifici se sono già stati esclusi dei tumori di quelle sedi.

- c. Tenere sempre presente che **la positività non è mai del 100%** e che a volte è inferiore al 10% è bene quindi tenere presente quali altre neoplasie possono condividere l'espressione di alcuni marcatori (come ad esempio il BEREp4 può essere positivo focalmente nel mesotelioma; la calretinina focalmente può essere positiva nel carcinoma polmonare, intensa nel carcinoma del corticosurrene, ecc)
- d. E' importante indicare nel referto un **grado di confidenza diagnostica** che corrisponde alla probabilità che il quadro clinico, morfologico ed immunofenotipico del caso sia corrispondente alla realtà.
- e. I test molecolari **possono essere utili** per arrivare ad una diagnosi quando il pannello immunoistochimico è del tutto negativo

OBIETTIVI FUTURI: REVISIONE ATTIVA

- *La creazione di un gruppo regionale di patologi referenti per la valutazione di casi complessi per raggiungere un consenso.*
Non avendo ancora il gruppo della ROP un riconoscimento ufficiale, si potrebbe verbalizzare per ogni incontro ogni caso valutato registrandolo in maniera anonima e riportando le problematiche diagnostiche e il consenso raggiunto. Ogni specialista che porta in valutazione il caso potrà così riferirsi all'opinione del gruppo

BIBLIOGRAFIA SELEZIONATA

Butnor KJ, Sporn TA, Ordonez NG. Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology. Recommendations for the reporting of pleural mesothelioma. Hum Pathol 2007 Nov;38(11):1587-9.

Fuchs TL, Chou A, Aksoy Y, Mahjoub M, Sheen A, Sioson L, Ahadi M, Gill AJ. A Critical Assessment of Current Grading Schemes for Diffuse Pleural Mesothelioma With a Proposal for a Novel Mesothelioma Weighted Grading Scheme (MWGS). Am J Surg Pathol 2022 Jun 1;46(6):774-785

Sauter JL, Dacic S, Galateau-Salle et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Pleura: Advances Since the 2015 Classification. J Thorac Oncol. 2022 May;17(5):608-622.

Schulte JJ, Husain AN. Updates on grading mesothelioma. Histopathology 2023 Oct 23. doi: 10.1111/his.15065.

Savic I, Myers J. Update on Diagnosing and Reporting Malignant Pleural Mesothelioma. Acta Med Acad 2021 Apr;50(1):197-208.

Neumann V, Günthe S, Mülle KM, Fischer M. Malignant mesothelioma —German mesothelioma register 1987-1999. Int Arch Occup Environ Health 2001 Aug;74(6):383-95.

Van Gelder T, Damhuis RA, Hoogsteden HC. Prognostic factors and survival in malignant pleural mesothelioma. Eur Respir J 1994 Jun;7(6):1035-8.

Yates DH, Corrin B, Stidolph BN, Browne K. Malignant mesothelioma in south east England: clinicopathological experience of 272 cases. Thorax 1997 Jun;52(6):507-12. doi: 10.1136/thx.52.6.507.

Husain AN, Colby TV, Ordóñez NG, Allen TC, Attanoos RL, Beasley MB, Butnor KJ, Chirieac LR, Churg AM, Dacic S, Galateau-Sallé F, Gibbs A, Gown AM, Krausz T, Litzky LA, Marchevsky A, Nicholson AG, Roggli VL, Sharma AK, Travis WD, Walts AE, Wick MR. Guidelines for Pathologic Diagnosis of Malignant Mesothelioma 2017 Update of the Consensus Statement From the International Mesothelioma Interest Group. Arch Pathol Lab Med. 2018 Jan;142(1):89-108.

Galateau Salle F, Le Stang N, Nicholson AG, Pissaloux D, Churg A, Klebe S, Roggli VL, Tazelaar HD, Vignaud JM, Attanoos R, Beasley MB, Begueret H, Capron F, Chirieac L, Copin MC, Dacic S, Danel C, Foulet-Roge A, Gibbs A, Giusiano-Courcambeck S, Hiroshima K, Hofman V, Husain AN, Kerr K, Marchevsky A, Nabeshima K, Picquenot JM, Rouquette I, Sagan C, Sauter JL, Thivolet F, Travis WD, Tsao MS, Weyand B, Damiola F, Scherpereel A, Pairon JC, Lantuejoul S, Rusch V, Girard N. New Insights on Diagnostic Reproducibility of Biphasic Mesotheliomas: A Multi-Institutional Evaluation by the International Mesothelioma Panel From the MESOPATH Reference Center. J Thorac Oncol. 2018 Aug;13(8):1189-1203.

ICCR: <https://www.iccr-cancer.org/datasets/published-datasets/thorax/mesothelioma/>