

Revisión de casos, estudio inmunohistoquímico y expresión del CKIT en melanomas de mucosa sinonasal, diagnosticados en los Hospitales Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza y Complejo Hospitalario de Navarra en Pamplona desde 1990 hasta 2016.

Autor: Dr. Carlo B. Marta C.

Facultativo especialista de Área, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico “Lozano Blesa”

Tutor: Dr. Fernando Lostalé Latorre

Profesor Titular del departamento de Anatomía e Histología Humana de la Universidad de Zaragoza.



INDICE

Resumen / Abstract	3
Introducción	4
Objetivos	8
Materiales y Métodos	8
Resultados	11
Conclusiones de discusión	16
Bibliografía	18
Anexos	21

RESUMEN

Los melanomas de mucosa sinonasal (SNMM) son entidades agresivas e infrecuentes, originadas en melanocitos presentes en el epitelio y estroma de la mucosa respiratoria. El diagnóstico es complicado debido a su morfología, distintos patrones arquitecturales/citológicos y ocasional ausencia de pigmento melánico. La mutación KIT, identificada en melanomas en 2004, esta descrita en aproximadamente 15-30% de los melanomas acrales y mucosos. Su estudio, plantea aprovechar el potencial terapéutico de fármacos inhibidores de la tirosinquinasa. Se revisaron los casos de SNMM, en los servicios de anatomía patológica de los Hospitales Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza y Complejo Hospitalario de Navarra en Pamplona, entre enero 1990 y junio 2016. Se estudiaron histológico e Inmunohistoquímicamente, incluyendo la técnica CKIT/CD117. Se recopilaron seis casos, cuatro epitelioides, un fusocelular y un plasmocitoide, todos ellos diagnosticados en adultos/ancianos, con características acordes a las descritas en la literatura. La expresión del CKIT (CD117) fue positiva en todos los casos. El tratamiento de elección fue la cirugía en todos los pacientes, algunos con posterior radioterapia. La sobrevida no fue mayor a tres años. Se plantea la utilidad de la tinción inmunohistoquímica como posible complemento al panel diagnóstico, el estudio mediante FISH para confirmar la presencia de la mutación y considerar una probable connotación terapéutica con inhibidores de la tirosinquinasa.

Palabras clave: Melanoma mucoso, sinonasal, CKIT.

INTRODUCCIÓN

El melanoma es una neoplasia maligna, originada en los melanocitos responsable de la pigmentación cutánea, caracterizada por una alta agresividad. Representa la sexta neoplasia más frecuente en la población norteamericana; actualmente se ha observado un incremento en su incidencia a nivel mundial, que ha variado de 2,3/100.000 habitantes en 1990 a 21,6/100.000 habitantes en 2012 (1). Esto último puede ser explicado por la mejora en técnicas de detección precoz y la detección mediante screening dermatológico de lesiones sospechosas.

Los factores de riesgos descritos para los melanomas cutáneos incluyen causas genéticas, ambientales y fenotípicas. Aproximadamente el 10% de los melanomas tienen una relación familiar, que frecuentemente están en relación a una heterogeneidad genética, esto último sugiere que están involucrados múltiples genes en su generación (2). El mayor factor de riesgo identificado ha sido la exposición intensiva y repetitiva a rayos ultravioleta (UV) (3 y 4).

Los melanomas mucosos constituyen el 1,3% de todos los melanomas y pueden desarrollarse en cualquier membrana mucosa. Se desarrollan en personas de la sexta o séptima década de vida, no se han descrito relaciones étnicas excepto en melanomas sinonasales, en los que se ha visto escasa frecuencia en personas de raza negra. No se ha demostrado relación entre los factores de riesgo conocidos para los melanomas cutáneos y los melanomas mucosos.

Estadísticamente los melanomas mucosos de origen conjuntival y sinonasal son los más comunes (0,5/millón/año ambos), seguidos por los melanomas anorectales (0,4/millón/año) y melanomas de la cavidad oral (0,2 /millón/año).

Los melanomas mucosos tienen por lo general un peor pronóstico y una baja tasa de supervivencia, esto puede ser atribuido al poco conocimiento que se tiene de ellos (debido a su baja incidencia), la alta agresividad que manifiestan y escaso margen de detección precoz (generalmente asociado a la localización anatómica donde se manifiestan). Se clasifican en tres grandes grupos: cabeza y cuello, vulvovaginales y anorectales.

Los melanomas mucosos de cabeza y cuello representan el 10% de todos los melanomas que se originan en dicha región (el 90% restante se

originan en la piel). Se subdividen, según la localización anatómica de las lesiones, en melanomas mucosos de cavidad nasal, senos paranasales y cavidad oral (5-10).

Los melanomas mucosos de la cavidad oral son una entidad poco frecuente, representa el 1-2% de todas las lesiones malignas orales. Están frecuentemente localizados en la mucosa que reviste el paladar y en líneas generales tienen un mejor pronóstico debido a que son un tipo de lesión que puede ser detectada de manera precoz (e incidental la mayoría de las veces) en revisiones odontológicas.

Los melanomas de mucosa sinonasal (SNMM) son entidades agresivas y poco frecuentes, originadas en los melanocitos presentes en el epitelio y estroma de la mucosa respiratoria. Representan el 0,3-2% de todos los melanomas malignos y aproximadamente el 4% de todos los melanomas en cabeza y cuello (11). El comportamiento de estos tumores es más agresivo que en su contraparte cutánea y esto es agravado debido a que generalmente son diagnosticados en fases avanzadas, en gran parte por las limitaciones anatómicas inherentes (12-14). El síntoma más frecuente, y generalmente la causa que origina el diagnóstico, es el sangrado nasal o epistaxis seguido de obstrucción nasal.

El diagnóstico de SNMM puede ser difícil debido a la variabilidad de la morfología tumoral, los distintos patrones arquitecturales/citológicos y la ocasional ausencia de pigmento melánico en la lesión. Los diagnósticos diferenciales que se plantean más comúnmente, una vez descartado un origen metastásico, son: carcinoma indiferenciado sinonasal, carcinoma de células pequeñas, tumores neuroendocrinos, neuroblastoma olfatorio, rabdomyosarcoma y linfomas.

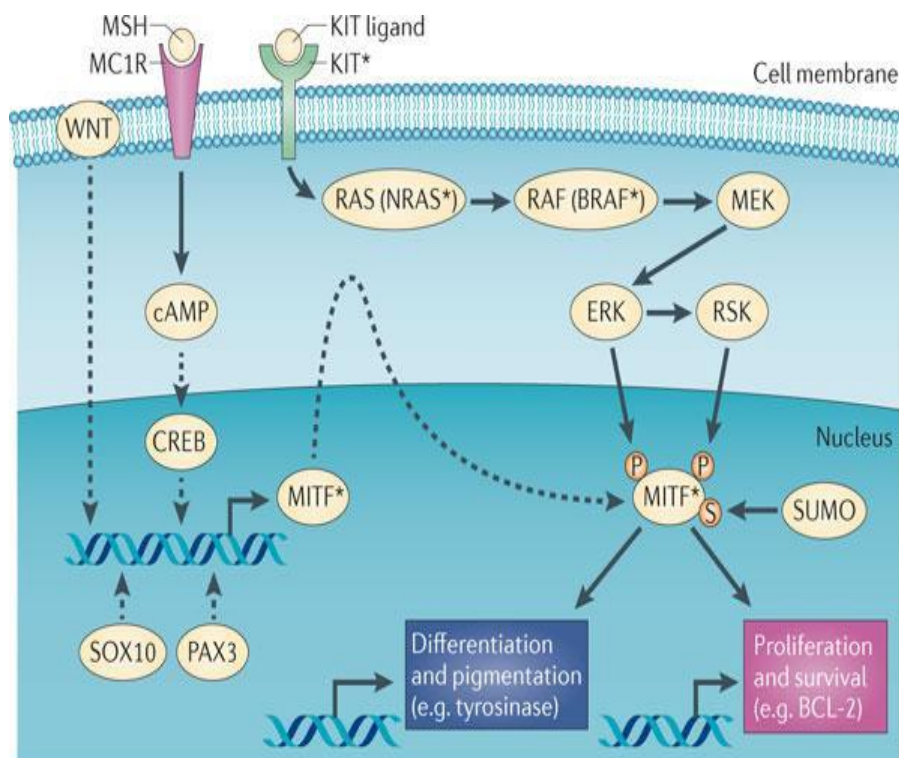
El pronóstico de la enfermedad está ligado a la edad del paciente y localización del tumor, sin embargo los esquemas clásicos de estadificación utilizados en los melanomas cutáneos no aplican en este tipo de tumores. Las características histológicas asociadas a un mal pronóstico en los melanomas cutáneos, tales como ulceración y grosor incrementado del tumor, son frecuentemente observadas en los melanomas sinonasales. Factores pronósticos histológicos, como el grosor de Breslow en los melanomas cutáneos, no han sido definidos en los melanomas sinonasales, sin embargo, algunos estudios han

correlacionado el tamaño de la neoplasia con mal pronóstico, extensión linfática o vascular. (31)

Estudios inmunohistoquímicos han demostrado la positividad para vimentina, proteína S100, HMB45, tirosinasa, Melan-A (Mart 1) y factor de transcripción de microftalmia (MITF), similares todas ellas a las evidenciadas en sus análogos cutáneos, y por lo tanto de vital importancia en el diagnóstico anatomopatológico.

A nivel molecular, se han realizado distintos abordajes con la finalidad de determinar la presencia de firmas moleculares que permitan el diseño de nuevos fármacos diana moleculares, o ya sea el uso de existentes. Mediante estudios de hibridación in situ inmunofluorescente (FISH), secuenciación directa e inmunohistoquímica, se ha logrado determinar la ausencia de mutaciones BRAF V600E, la presencia de mutaciones somáticas en NRAS y KIT (22 y 12.5% respectivamente) con amplificación de RREB1 (100%) y pérdida de MYB (76%). La expresión inmunohistoquímica de la proteína KIT se ha reportado en el 96,9%. (33)

FIGURA 1:



Nature Reviews | Cancer

Fuente: Keith T. Flaherty, F. Stephen Hodi & David E. Fisher. From genes to drugs: targeted strategies for melanoma. Nature Reviews Cancer 12, 349-361 (May 2012)

Molecularmente, c-kit (CD117) se corresponde a un receptor transmembrana de tirosinquinasa codificado por el proto-oncogen KIT (15), este último permite la unión de receptores fosforilados a varios sustratos proteínicos cuando son activados por mutaciones carcinogénicas. Esto a su vez, conduce a la activación de cascadas de transducción que regulan la proliferación celular, apoptosis y quimiotaxis. (16-17) (figura 1)

La mutación KIT fue identificada por primera vez en melanomas en 2004, diversos informes encontraron que las mutaciones que afectan los exones 11, 13 y 17 eran las más frecuentes en casos de melanomas cutáneos. El exón 11 y la mutación puntual K642E del exón 13 son las alteraciones genéticas más importantes (18-25). Se ha demostrado que el 30% de los melanomas con mutación KIT presentan amplificación del gen KIT (20-22,25). Característicamente la prevalencia de mutación o amplificación del KIT es distinta en subtipos específicos de melanomas. La mutación y amplificación del c-kit se ha encontrado en aproximadamente 15-30% de los melanomas acrales y mucosos (17), también se ha descrito que los melanomas de mucosas presentan una alta frecuencia de mutación y amplificación del c-kit, inclusive aún mayor que en los melanomas acrales. (22-26)

La positividad para la mutación KIT en lesiones melánicas cutáneas está relacionada con terapias de fármacos diana como el Imatinib, que ha presentado altas tasas de respuesta y se utiliza ampliamente en la actualidad en el tratamiento de tumores del estroma gastrointestinal (GIST). Esto último ha generado que se empiece a estudiar su expresión en SNMM con el consecuente potencial terapéutico asociados a la misma (32).

OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es documentar los casos existentes de melanoma mucoso maligno sinonasal, en los servicios de anatomía patológica de los Hospitales Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza y Complejo Hospitalario de Navarra en Pamplona, entre enero 1990 y junio 2016.

Como objetivos secundarios se plantea:

- Realizar cortes de Hematoxilina Eosina, técnica histoquímica de Masson-Fontana y técnicas inmunohistoquímicas de HMB45, MelanA y s100.

- Estudiar la expresión inmunohistoquímica del Ckit con la finalidad de comprobar su posible uso como marcador de diagnóstico y a su vez plantear su probable utilidad a futuro para el cribaje de casos subsidiarios de la realización de FISH para determinar la presencia de mutación y posible terapia diana.

- Comparar las características histológicas, clínicas, radiológicas e inmunohistoquímicas con la literatura reciente y tratar de determinar si existen similitudes o discordancias con respecto a la misma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio descriptivo de tipo retrospectivo, en el que se realizó una búsqueda electrónica en los archivos de los Servicios de Anatomía Patológica de los Hospitales Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza y Complejo Hospitalario de Navarra en Pamplona. Los lapsos de la búsqueda fueron entre enero 1990 y junio 2016.

Los criterios de inclusión fueron, todos los pacientes diagnosticados histológicamente de Melanoma mucoso primario de localización en cabeza cuello, posteriormente se refinó la búsqueda restringiendo a los específicamente localizados en región sinonasal. Fueron excluidos los pacientes con diagnósticos de melanomas cutáneos, intraoculares y aquellos en los que existían antecedentes de melanoma como tumor primario cutáneo o extracutáneo confirmado en otra localización anatómica.

Se revisaron las historias clínicas digitales de los casos que cumplían los requisitos y se seleccionaron las siguientes variables:

1. Datos epidemiológicos:
 - 1.1. Edad al momento del diagnóstico.
 - 1.2. Género.
 - 1.3. Fecha del diagnóstico.
 - 1.4. Fecha del Exitus (si procede).
 - 1.5. Días de sobrevida.
2. Datos clínicos:
 - 2.1. Síntomas iniciales.
 - 2.2. Localización anatómica.
 - 2.3. Dimensiones radiológicas.
 - 2.4. Tratamiento postquirúrgico.
 - 2.5. Extensión ganglionar.
 - 2.6. Presencia de metástasis.
3. Datos histológicos:
 - 3.1. Subtipo histológico.
 - 3.1.1. Epitelioide
 - 3.1.2. Fusocelular
 - 3.1.3. Plasmocitoide
 - 3.2. Presencia de pigmento melánico.
 - 3.3. Cuantificación de mitosis.
 - 3.4. Ulceración.
 - 3.5. Necrosis.
 - 3.6. Invasión perineural o linfovascular.
 - 3.7. Márgenes quirúrgicos.
 - 3.8. Infiltración a estructuras circundantes.
 - 3.9. Perfil inmunohistoquímico
 - 3.9.1. HMB45
 - 3.9.1.1. Negativo = -1
 - 3.9.1.2. Positivo 1+ = 1
 - 3.9.1.3. Positivo 2+ = 2
 - 3.9.1.4. Positivo 3+ = 3
 - 3.9.2. S100
 - 3.9.2.1. Negativo = -1
 - 3.9.2.2. Positivo 1+ = 1
 - 3.9.2.3. Positivo 2+ = 2

- 3.9.2.4. Positivo 3+ = 3
- 3.9.3. MelanA
 - 3.9.3.1. Negativo = -1
 - 3.9.3.2. Positivo 1+ = 1
 - 3.9.3.3. Positivo 2+ = 2
 - 3.9.3.4. Positivo 3+ = 3
- 3.10. Valoración de la expresión de cd117/C-KIT
 - 3.10.1. Porcentaje de tinción:
 - 3.10.1.1. <10% = 0
 - 3.10.1.2. 11-50% = 1
 - 3.10.1.3. >50% = 2
 - 3.10.2. Intensidad de tinción:
 - 3.10.2.1. Negativo = 0
 - 3.10.2.2. Débil = 1
 - 3.10.2.3. Moderada = 2
 - 3.10.2.4. Fuerte = 3

Para el nuevo estudio histológico de los casos seleccionados, se utilizaron los bloques de tejido en parafina (previamente fijados en formol), archivados en los servicios de Anatomía Patológica. Se realizaron nuevos cortes histológicos, que fueron teñidos con Hematoxilina/Eosina y fueron valorados mediante microscopía óptica.

Se documentó la morfología celular tumoral, presencia y cuantificación de mitosis, ulceración, necrosis, invasión perineural y/o linfovascular, márgenes quirúrgicos y afectación de estructuras aledañas (tales como hueso, cartílago o músculo esquelético). Se constató la presencia de pigmento melánico mediante la técnica histoquímica de Masson-Fontana.

Se realizaron técnicas inmunohistoquímicas utilizando el sistema automatizado Ventana Benchmark GX, un panel de anticuerpos monoclonales de Roche Diagnostic para HMB45, MelanA, S100 y CD117/C KIT.

El estudio del C-kit (CD117) se realizó en todos los casos, para la interpretación de los resultados se consultó la literatura vigente y se seleccionaron los siguientes criterios (17-20):

1. Porcentaje de tinción:
 - a. <10%= 0

- b. 11-49%= 1
 - c. >50%= 2
2. Intensidad de la tinción:
- a. Negativo = 0
 - b. Débil = 1
 - c. Moderada = 2
 - d. Fuerte = 3.

Las variables del estudio se recopilaron en una base de datos creada con el programa SPSS versión 15.0. Para todas las pruebas se aceptó un valor de significación del 5%. El procesamiento y análisis de los datos se realizó mediante el mismo programa estadístico SPSS versión 15.0

RESULTADOS

Los resultados de dicha búsqueda fueron 6 casos en el Complejo Hospitalario de Navarra y ninguno en el Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza. Todos los casos procedían del servicio de Otorrinolaringología y fueron tratados en el centro donde fueron diagnosticados (anexo 1).

Los casos seleccionados presentaron un rango de edades que oscila entre los 46 y los 86 años, con una media aritmética de 65 años. Con respecto al género, se observó un predominio en mujeres con una relación de 2:1 (Tabla 1).

Tabla 1 Distribución por género

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Hombre	2	33,3	33,3	33,3
Mujer	4	66,7	66,7	100,0
Total	6	100,0	100,0	

El síntoma inicial de consulta más predominante es la epistaxis con obstrucción nasal, seguido por epistaxis sola y diplopía/proptosis (Tabla 2). El tamaño promedio tridimensional fue de 3 x 2 x 1,3 cm, con presencia de pigmento melánico en 3 casos (50%).

Tabla 2 Distribución por síntomas iniciales de consulta

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Epistaxis	2	33,3	33,3	33,3
Epistaxis/Obstrucción nasal	3	50,0	50,0	83,3
Diplopía/Proptosis	1	16,7	16,7	100,0
Total	6	100,0	100,0	

Histológicamente todos los casos presentaron características concordantes con el diagnóstico de Melanoma mucoso, cuatro de ellos correspondían al subtipo epitelioides (imagen 1), un fusocelular (imagen 2) y un plasmocitoides (imagen 3).

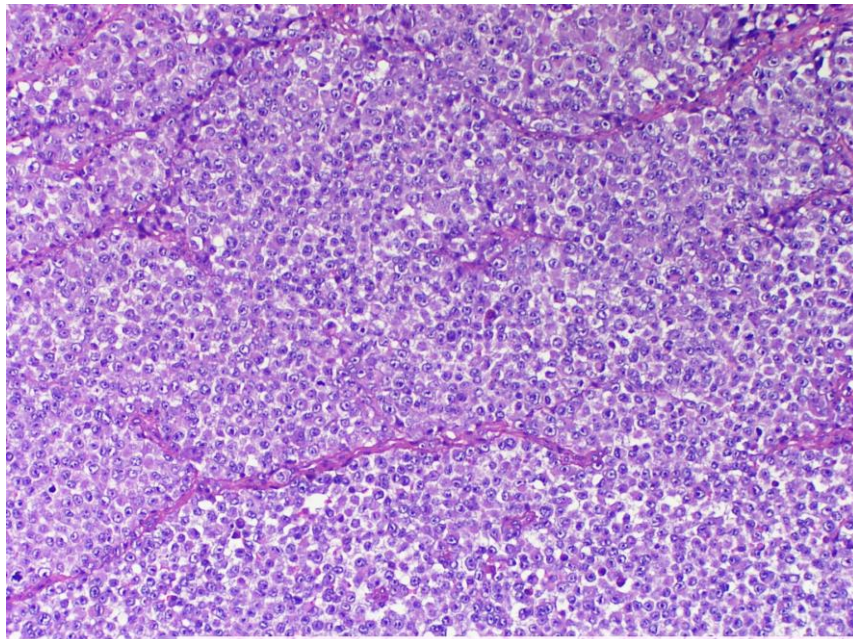


Imagen 1: detalle de la configuración epitelioides presente en uno de los melanomas estudiados.

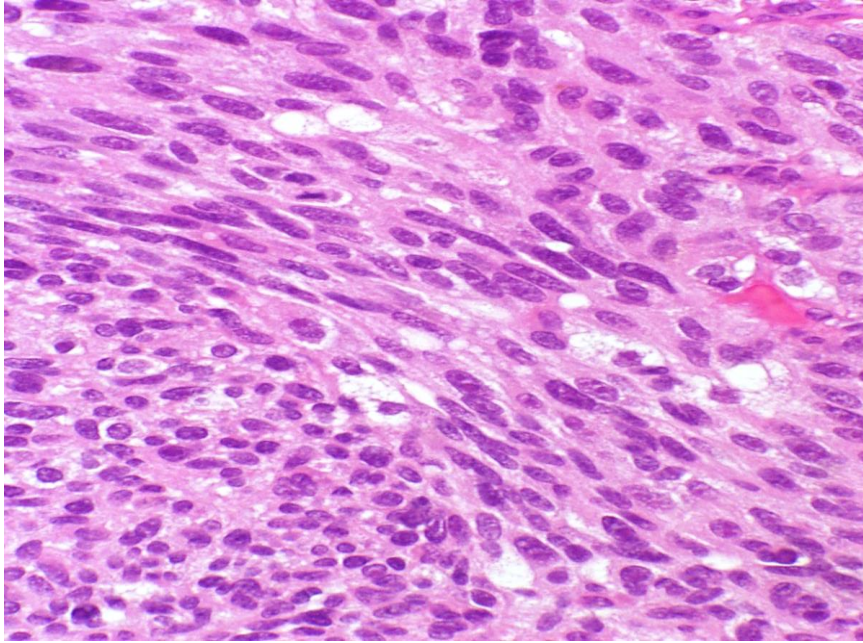


Imagen 2: detalle de la configuración fusocelular presente en uno de los melanomas estudiados

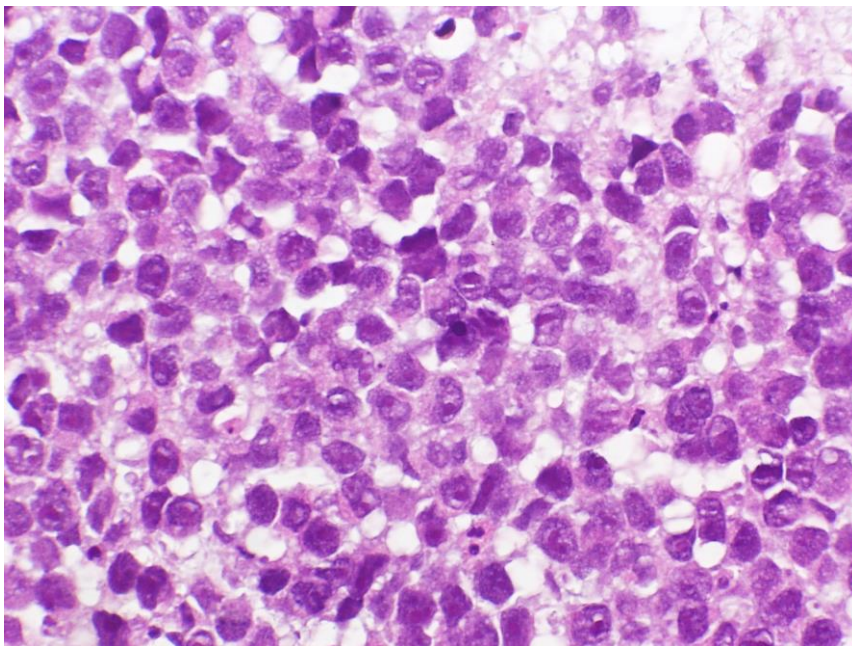


Imagen 3: detalle de la configuración plasmocitoide presente en uno de los melanomas estudiados

A nivel inmunohistoquímico se observó positividad para HMB45 y MelanA, sin embargo la S100 fue positiva sólo en cuatro de los seis casos (Tabla 3, 4 y 5).

Tabla 3 Tinción inmunohistoquímica para HMB45

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
-1	0	0	0	0
1	0	0	0	0
2	4	66,7	66,7	66,7
3	2	33,3	33,3	100,0
Total	6	100,0	100,0	

Tabla 4 Tinción inmunohistoquímica para MelanA

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
-1	0	0	0	0
1	0	0	0	0
2	2	33,3	33,3	33,3
3	4	66,7	66,7	100,0
Total	6	100,0	100,0	

Tabla 5 Tinción inmunohistoquímica para S100

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
-1	2	33,3	33,3	33,3
1	1	16,7	16,7	50,0
2	2	33,3	33,3	83,3
3	1	16,7	16,7	100,0
Total	6	100,0	100,0	

El estudio inmunohistoquímico del c-kit (CD117) fue positivo en todos los casos (Figura compuesta 1), con un patrón de tinción citoplasmático característico de tipo difuso con acentuación en la membrana. Su interpretación fue la siguiente (tabla 6): Caso 1: 1/1, Caso 2: 2/2, Caso 3: 2/3, Caso 4: 2/3, Caso 5: 2/2 y Caso 6: 2/2.

Tabla 6: Análisis de los patrones de tinción presentes en la técnica inmunohistoquímica para CD117/CKIT

Caso	1	2	3	4	5	6
Porcentaje de tinción	<25%	50-75%	>75%	100%	100%	>75%
Intensidad de tinción	1	2	3	3	2	2

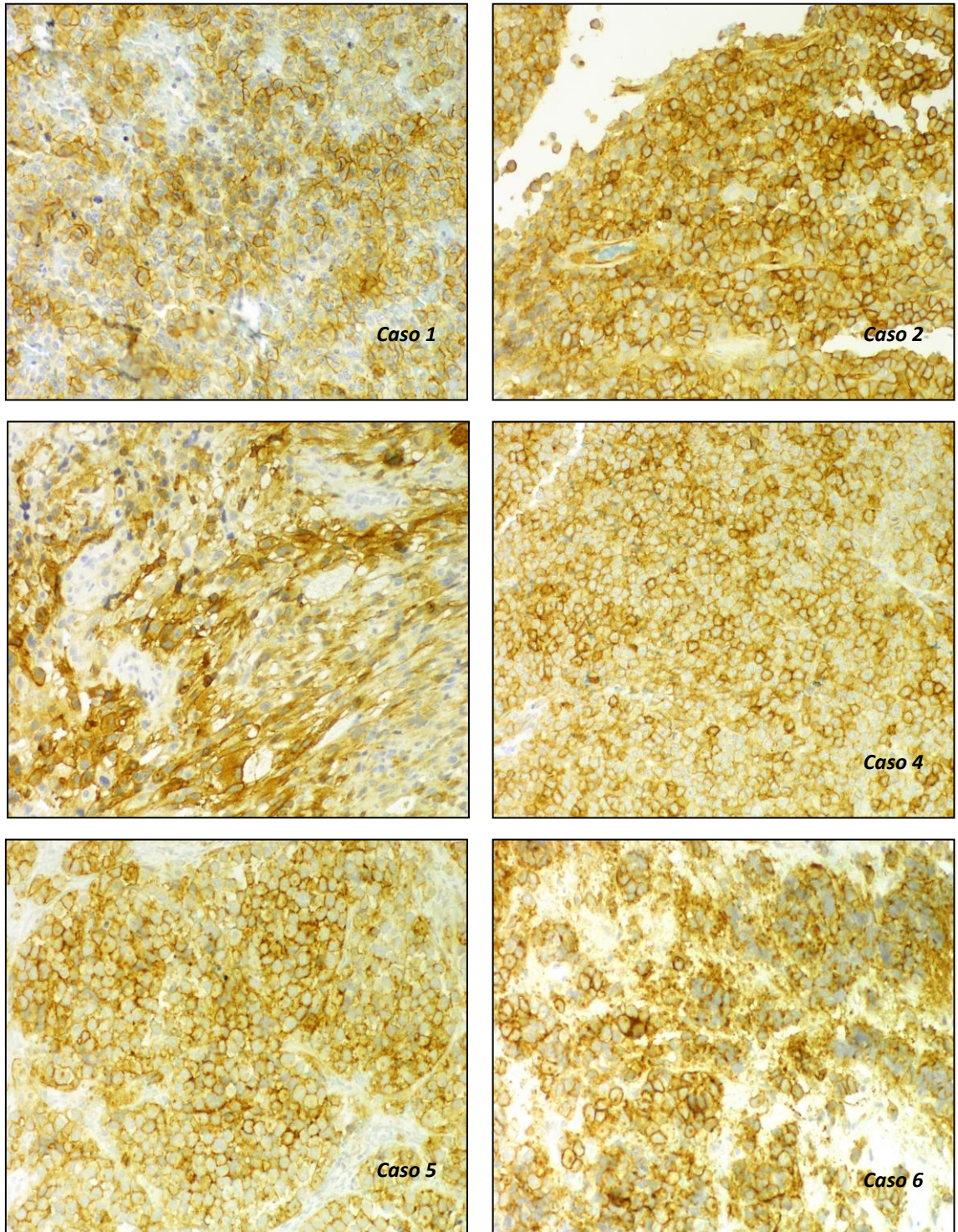


Figura compuesta 1: Detalle de las imágenes inmunohistoquímicas para CD117 (C-Kit), presentes en todos los casos estudiados.

El seguimiento posterior al diagnóstico y tratamiento solo se pudo realizar a 5 pacientes, esto último debido a que uno de ellos regresó a su país de origen. La supervivencia fue en promedio de 406 días, con rangos que oscilan entre 12 días y 865 días.

El tratamiento en todos los casos fue quirúrgico, con Radioterapia postquirúrgica en 3 casos. Se detectaron metástasis óseas en 3 casos (50%), y localizadas principalmente en Pelvis, columna y cráneo. Un caso curso con metástasis hepáticas y otro caso presentó afectación ganglionar cervical bilateral en el momento del diagnóstico.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los SNMM se observaron principalmente en pacientes de la sexta/séptima década de la vida. Las neoplasias al momento del diagnósticos presentaban estadios avanzados de evolución, en su mayor parte con tamaños que llegaban a ocupar la totalidad de la cavidad nasal e incluso llegando, algunas de ellas, a extendiéndose a los senos circundantes con destrucción ósea y desplazando a estructuras vecinas. Todos estos hallazgos son concordantes con la información reflejada en la literatura consultada al momento del estudio (8).

Las lesiones presentaban todas ellas características histológicas concordantes con el diagnóstico de melanomas mucosos, sin embargo se observaron distintos subtipos histológicos: cuatro tenían patrón epitelioide, una patrón fusocelular y otra patrón plasmocitoide. Destacó la presencia de pigmento melánico en solamente tres de ellas, esto pudiese tener cierta relevancia a nivel de la detección precoz, debido a que característicamente este tipo de lesiones destaca por la característica pigmentación de las mismas y por lo tanto lesiones de pequeño tamaño desprovistas de pigmento pueden pasar fácilmente desprevénidas en etapas iniciales.

Los patrones inmunohistoquímicos clásicamente descritos por la literatura fueron concordantes, debido a que todas las lesiones expresaron positividad para MelanA y HMB45. Sin embargo, la negatividad para S100 fue manifiesta en solo 2 casos (epitelioides ambos), esto es relativamente frecuente en lesiones melánicas de subtipo fusocelular sin embargo a nivel epitelioide no es frecuente. Por esto último, es

recomendable la evaluación de este tipo de lesiones con un amplio panel de marcadores, sin restringir el estudio a escasos marcadores inmunohistoquímicos y por tanto obtener falsos negativos.

El estudio inmunohistoquímico del C-kit fue positivo en el 100% de los casos, esto pudiera sugerir su utilidad como marcador de rutina en el panel diagnóstico de lesiones melánicas. Sin embargo, revisando la literatura actual existe un contraste debido a que la positividad oscila entre un 10-50% (17-20). Sería destacable ampliar el estudio molecular de nuestros casos para mediante la técnica de FISH para confirmar la presencia de la mutación KIT. Esto pudiera repercutir en un probable beneficio para los pacientes, debido a que el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas y la experiencia con terapias diana inhibitoras de la tirosinquinasa como el *Imatinib*, utilizado en los tumores del estroma gastrointestinal (GIST), pudieran ser extrapolados a este tipo de lesiones.

La evolución de todos los pacientes fue mala, la gran mayoría no sobrevivió al primer año posterior al diagnóstico. La radioterapia adyuvante fue realizada en la mitad de los casos, sin llegar a observarse diferencias significativas con respecto a la supervivencia. Las metástasis detectadas al momento del diagnóstico o posterior al mismo, estaban localizadas principalmente a nivel óseo y hepático.

Esta pequeña serie descrita no posee un poder estadístico destacable a nivel de estudios estadísticos de tipo inferencial, simplemente se trata de un estudio meramente descriptivo, sin poder establecer relaciones de peso entre las distintas variables estudiadas. Sin embargo, cabe destacar que son seis casos recopilados en un amplio margen cronológico, tratándose de una patología de baja incidencia con una baja tasa de sobrevida que nos muestra su alto nivel de letalidad.

Esta serie pudiera ser utilizada en conjunto con otras series descritas, con la finalidad de incrementar su potencial estadístico y arrojar luces acerca de las características, relación entre distintas variables y estudio de probables opciones terapéuticas en el futuro mediano para este tipo de patología.

BIBLIOGRAFIA

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(1):7.
2. Mucci LA et al. Familial Risk and Heritability of Cancer Among Twins in Nordic Countries. *JAMA.* 2016 Jan;315(1):68-76.
3. US Department of Health and Human Services. The Surgeon General's Call to Action to Prevent Skin Cancer. US Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon General, Washington, DC, 2014.
4. Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int J Cancer.* 1997;73(2):198.
5. Manolidis S, Donald PJ. Malignant mucosal melanoma of the head and neck: review of the literature and report of 14 patients. *Cáncer.* 1997;80(8):1373.
6. Nandapalan V, Roland NJ, Helliwell TR, Williams EM, Hamilton JW, Jones AS. Mucosal melanoma of the head and neck. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1998 Apr;23(2):107-16.
7. Patel SG, Prasad ML, Escrig M, Singh B, Shaha AR, Kraus DH. Primary mucosal malignant melanoma of the head and neck. *Head Neck.* 2002;24(3):247.
8. McLean N, Tighiouart M, Muller S. Primary mucosal melanoma of the head and neck. Comparison of clinical presentation and histopathologic features of oral and sinonasal melanoma. *Oral Oncol.* 2008 Nov;44(11):1039-46. Epub 2008 Apr 8
9. DeMatos P, Tyler DS, Seigler HF. Malignant melanoma of the mucous membranes: a review of 119 cases. *Ann Surg Oncol.* 1998;5(8):733.
10. Bachar G, Loh KS, O'Sullivan B, Goldstein D, Wood S, Brown D. Mucosal melanomas of the head and neck: experience of the Princess Margaret Hospital. *Head Neck.* 2008;30(10):1325.
11. Thompson LD, Wieneke JA, Miettinen M. Sinonasal tract and nasopharyngeal melanomas: a clinicopathologic study of 115 cases with a proposed staging system. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:594–611.

12. Younes MN, Myers JN. Melanoma of the head and neck: current concepts in staging, diagnosis, and management. *Surg Oncol Clin N Am.* 2004;13:201–229.
13. Penel N, Mallet Y, Mirabel X, et al. Primary mucosal melanoma of head and neck: prognostic value of clear margins. *Laryngoscope.* 2006;116:993–995.
14. Meleti M, leemans CR, de Bree R, et al. Head and neck mucosal melanoma: experience with 42 patients, with emphasis on the role of postoperative radiotherapy. *Head Neck.* 2008;30:1543–1551.
15. Rivera RS, Nagatsuka H, Gunduz M, et al. c-kit protein expression correlated with activating mutations in KIT gene in oral mucosal melanoma. *Virchows Arch.* 2008;452:27–32.
16. Lennartsson J, Blume-Jensen P, Hermansson M, et al. Phosphorylation of Shc by Src family kinases is necessary for stem cell factor receptor/c-kit mediated activation of Ras/MAP kinase pathway and c-fos induction. *Oncogen.* 1999;18:5546–5553.
17. Lin SC, Liu CL, Wang TI, et al. Clinical implication of C-kit gene mutation in patients with large gastrointestinal stromal tumors. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:1604–1608.
18. Willmore-Payne C, Holden JA, Tripp S, et al. Human malignant melanoma: detection of BRAF- and c-kit-activating mutations by high-resolution amplicon melting analysis. *Hum Pathol.* 2005;36:486–493.
19. Willmore-Payne C, Holden JA, Hirschowitz S, et al. BRAF and c-kit gene copy number in mutation-positive malignant melanoma. *Hum Pathol.* 2006;37:520–527.
20. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, et al. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol.* 2006;24:4340–4346.
21. Antonescu CR, Busam KJ, Francone TD, et al. L567P KIT mutation in anal melanomas correlates with KIT protein expression and is sensitive to specific kinase inhibition. *Int J Cancer.* 2007;121:257–264.
22. Beadling C, Jacobson-Dunlop E, Hodi FS, et al. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res.* 2008;14:6821–6828.
23. Satzger I, Schaefer T, Kuettler U, et al. Analysis of c-KIT expression and KIT gene mutation in human mucosal melanomas. *Br J Cancer.* 2008;99:2065–2069.

24. Ashida A, Takata M, Murata H, et al. Pathological activation of KIT in metastatic tumors of acral and mucosal melanomas. *Int J Cancer*. 2009;124:862–868.
25. Torres-Cabala CA, Wang WL, Trent J, et al. Correlation between KIT expression and KIT mutation in melanoma: a study of 173 cases with emphasis on the acral-lentiginous/mucosal type. *Mod Pathol*. 2009;22:1446–1456.
26. Woodman SE, Davies MA. Targeting KIT in melanoma: a paradigm of molecular medicine and targeted therapeutics. *Biochem Pharmacol*. 2010;80:568–574.
27. Giehl KA, Nagele U, Volkenandt M, Berking C. Protein expression of melanocyte growth factors (bFGF, SCF) and their receptors (FGFR-1, c-kit) in nevi and melanoma. *J Cutan Pathol*. 2007;34:7–14.
28. Pereira PR, Odashiro AN, Marshall JC, Correa ZM, Belfort R, Jr, Burnier MN., Jr The role of c-kit and imatinib mesylate in uveal melanoma. *J Carcinog*. 2005;4:19.
29. Potti A, Hille R, Koch M. Immunohistochemical determination of HER2/neu in malignant melanoma. *Anticancer Res*. 2003;23:4067–4069.
30. Rivera RS, Nagatsuka H, Gunduz M, Cengiz B, Gunduz E, Siar CH, Tsujigiwa H, Tamamura R, Han KN, Nagai N. C-kit protein expression correlated with activating mutations in KIT gene in oral mucosal melanoma.
31. Pföhler C, Vogt T, Müller CS. Malignant head and neck melanoma: Part 1: Diagnosis and histological particularities. *HNO* 2015 Jul; 63(7): 523-34; quiz 535-6.
32. Troussier I, Baglin AC, Marcy PY, Even C, Moya-Plana A. Mucosal melanomas of the head and neck: State of the art and current controversies. *Bull Cancer* 2015 Jun; 102(6): 559-67.
33. Turri-Zanoni M, Medicina D, Lombardi D, Ungari M, Balzarini P, Rossini C. Sinonasal mucosal melanoma: Molecular profile and therapeutic implications from a series of 32 cases. *Head Neck*, 2013 Aug; 35(8):1066-77.