



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche

con interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa

Unità Operativa complessa di Dermatologia e Venereologia

***Nidi cerebriformi in microscopia laser confocale: correlazione
con pattern dermatoscopici e positività di linfonodo sentinella in
una popolazione selezionata di melanomi***

Relatrice:

Prof.ssa **FRANCESCA FARNETANI**

Correlatore:

Dott. **ANTONIO ALMA**

Tesi di Laurea di:

FEDERICA GALLO

Anno Accademico 2025/2026

Siedi. Con la tua vita saziati.

DEREK WALCOTT, *Amore dopo amore*

ABSTRACT

Introduzione: il melanoma è una neoplasia maligna ad elevata aggressività biologica e significativo potenziale metastatico. La diagnosi precoce riveste un ruolo fondamentale. Oltre all'esame clinico, tra le principali metodiche diagnostiche non invasive rientrano la dermatoscopia e la microscopia laser confocale (RCM). Tra i pattern visibili in RCM vi sono i nidi cerebriformi, aggregati cellulari caratterizzati da un aspetto che richiama le circonvoluzioni cerebrali. Tali strutture presentano bassa riflettività, citoplasma granulare privo di nuclei evidenti e margini poco definiti. Questo pattern, descritto esclusivamente nei melanomi e soprattutto nelle forme invasive, è considerato altamente suggestivo di malignità. Una volta confermato il sospetto diagnostico, la lesione viene sottoposta a escissione chirurgica e a successiva valutazione istopatologica. Nei casi indicati, viene inoltre eseguita la biopsia del linfonodo sentinella (SLN), definito come il primo linfonodo che riceve il drenaggio linfatico dall'area del melanoma primitivo. La valutazione dello SLN rappresenta un importante fattore prognostico, correlato alla sopravvivenza del paziente.

Scopo dello studio: lo scopo del presente studio è analizzare le caratteristiche istologiche, dermatoscopiche (valutate mediante la *Revised 7-point checklist*), e i reperti di RCM dei melanomi caratterizzati dalla presenza di nidi cerebriformi. Inoltre, si intende valutare l'eventuale associazione tra tale pattern e la positività del linfonodo sentinella nei pazienti esaminati.

Materiali e Metodi: è stata condotta una selezione retrospettiva di casi di melanoma dal database della clinica dermatologica dell'Università di Modena e Reggio Emilia, che avessero nidi a morfologia cerebriforme in RCM e per i quali fosse disponibile un set completo di immagini in dermatoscopia e in RCM nel periodo 2016-2023.

Risultati: sono stati inclusi 21 pazienti affetti da melanoma caratterizzato da nidi dermici cerebriformi. Lo spessore medio di Breslow era pari a $2,07 \pm 1,20$ mm e l'ulcerazione è presente nel 42,9% dei casi. La maggior parte dei tumori mostra crescita verticale (92,9%) e livello di Clark IV (66,7%), con un'elevata prevalenza di infiltrato linfocitario tumorale (84,2%). Il SLN risulta negativo nella maggior parte dei pazienti (76,2%), mentre metastasi a distanza sono presenti nel 15,0% dei casi. All'esame dermoscopico, i reperti

più frequenti sono il velo blu-biancastro e il pattern vascolare atipico (entrambi 76,2%). In RCM, le cellule pagetoidi sono presenti nel 95,2% dei casi e distribuzione prevalentemente diffusa (76,2%). Tutti i melanomi mostrano pattern giunzionale disordinato. L'analisi univariata non ha evidenziato associazioni statisticamente significative tra variabili clinicopatologiche, dermoscopiche o confocali e la presenza di metastasi. Analogamente, non sono emerse associazioni clinicamente significative con lo stato del SLN.

Conclusioni: i melanomi con nidi cerebriformi presentano caratteristiche dermoscopiche e RCM relativamente omogenee, mentre le variabili analizzate non risultano globalmente predittive della presenza di metastasi.

INDICE

1.	INTRODUZIONE.....	1
1.1	ANATOMIA DELLA CUTE.....	1
1.2	IL MELANOMA	1
1.3	EPIDEMIOLOGIA	2
1.4	FATTORI DI RISCHIO	3
1.5	CLASSIFICAZIONE CLINICA	5
1.5.1	Melanoma Lentigo-maligna.....	6
1.5.2	Melanoma a diffusione superficiale	7
1.5.3	Melanoma nodulare	8
1.5.4	Melanoma acrale lentiginoso.....	9
1.5.5	Tipologie rare di melanoma	10
1.6	PREVENZIONE	11
1.7	DIAGNOSI	13
1.7.1	Clinica	13
1.7.2	Dermatoscopia	17
1.7.3	Microscopia laser confocale.....	20
1.7.4	Istopatologia.....	32
1.8	FATTORI PROGNSOTICI	33
1.9	STADIAZIONE	35
1.9.1	Linfonodo sentinella	39
1.10	TRATTAMENTO	40
1.10.1	Resezione chirurgica.....	40
1.10.2	Chemioterapia.....	40
1.10.3	Immunoterapia e Terapie a target molecolare	41
1.11	FOLLOW-UP.....	42
2.	SCOPO DELLA TESI	43
3.	MATERIALI E METODI.....	44
3.1	DATABASE.....	44
3.2	ANALISI STATISTICA	46
3.3	DERMATOSCOPIO	46
3.4	RCM VIVASCOPE 1500.....	46
3.5	RCM VIVASCOPE 3000	47
4.	RISULTATI.....	48

5. DISCUSSIONE	63
6. CONCLUSIONI	65
7. LIMITI DELLO STUDIO	66
BIBLIOGRAFIA	67
RINGRAZIAMENTI.....	74

1. INTRODUZIONE

1.1 ANATOMIA DELLA CUTE

La cute è l'organo più esteso del corpo umano e rappresenta all'incirca il 15% del peso corporeo di un adulto. Svolge diverse funzioni fondamentali di protezione contro le aggressioni esterne, rese possibili dalla sua struttura complessa. È organizzata in tre strati principali: l'epidermide (con i suoi annessi), il derma e l'ipoderma.(1)

La capacità protettiva è attribuita principalmente allo strato corneo dell'epidermide, costituito da cellule ad alto contenuto proteico immerse in una matrice ricca di lipidi.(2)

Il derma, invece, è un sistema complesso di tessuto connettivo, composto da una componente fibrosa e da una sostanza amorfa. Al suo interno sono presenti vasi sanguigni e linfatici, terminazioni nervose, annessi cutanei di derivazione epidermica (follicoli piliferi e ghiandole sebacee e sudoripare) e diverse cellule residenti, tra cui fibroblasti, macrofagi e mastociti.(3)

L'ipoderma, chiamato anche tessuto sottocutaneo, è lo strato più profondo della cute e contiene lobuli di tessuto adiposo separati da setti connettivali. Tali cellule adipose partecipano attivamente ai processi di mantenimento dell'equilibrio dell'epidermide, contribuendo in particolare alla rigenerazione dei follicoli piliferi e ai meccanismi di riparazione tissutale. Lo spessore del tessuto sottocutaneo varia a seconda della sede del corpo.(4)

1.2 IL MELANOMA

Il melanoma è una neoplasia solida maligna tra le più aggressive(5); origina dal processo di trasformazione neoplastica dei melanociti, cellule derivanti dalla cresta neurale e deputate alla produzione di melanina, residenti a livello cutaneo, nello strato basale dell'epidermide(6), dal quale può eventualmente estendersi anche al derma e all'ipoderma.

Con un'incidenza molto inferiore, il melanoma può colpire anche distretti corporei differenti, quali, per esempio il tratto gastroenterico, la mucosa orale, l'uvea e le leptomeningi.

Tendenzialmente la maggior parte dei melanomi si sviluppa de novo, senza una lesione precursore identificabile, mentre un numero più esiguo insorge su un nevo già presente (melanocitico o congenito). In termini statistici, la probabilità che un melanoma sia associato a un nevo è significativamente inferiore rispetto alla forma de novo(7).

1.3 EPIDEMIOLOGIA

L'incidenza del melanoma è in costante aumento nelle popolazioni di pelle chiara, in particolare nei contesti di esposizione prolungata alla radiazione solare. Esempio emblematico l'Australia, dove i dati epidemiologici relativi ai tumori cutanei mostrano tassi elevati in termini di incidenza e prevalenza(8), arrivando fino a circa 60 nuovi casi per 100.000 abitanti. In Europa, invece, l'incidenza del melanoma si attesta intorno ai 25 nuovi casi ogni 100.000 abitanti; negli Stati Uniti il valore è leggermente superiore, raggiungendo circa 30 casi per 100.000(9).

L'incremento dei casi è stato particolarmente pronunciato nella popolazione compresa tra i 30 e i 60 anni e le proiezioni basate sui trend epidemiologici suggeriscono che tale crescita è destinata a proseguire anche nel prossimo futuro (10).

Solo nell'ultimo decennio, secondo i dati dell'Istituto superiore di sanità, si è registrato un aumento delle diagnosi di melanoma di circa il 15% rispetto a quello precedente(9).

Tale patologia rappresenta il terzo tumore più frequente per entrambi i sessi (11), con un rapporto maschi/femmine pari a 1,2/1(12).

I dati mostrano che, in Italia, negli ultimi cinque anni, i decessi attribuiti al melanoma sono circa 7000. In realtà, non è possibile individuare un numero preciso, poiché nei certificati di morte non è dettagliato quale tipo di tumore cutaneo maligno ha portato al decesso. In particolare, i tassi medi di mortalità annua oscillano tra 5 su 100.000 per i maschi e 6 su 100.000 per le femmine (13).

A livello di singole città o regioni i numeri possono essere anche più elevati; un esempio è la città di Trieste dove il tasso di mortalità è di 10 su 100.000 o Genova (oltre 6-7 su 100.000), così come Veneto e Romagna. Inoltre, contrariamente a quanto si potrebbe pensare, nelle regioni italiane settentrionali la mortalità è circa il doppio di quella registrata nelle regioni meridionali (14).

A livello delle diverse sedi corporee, il melanoma non si distribuisce in modo uniforme: i dati evidenziano un aumento più evidente nel tronco, mentre nel distretto testa-collo la crescita risulta più contenuta. Per quanto riguarda gli arti inferiori, l'incremento è più significativo nel donne, suggerendo un possibile ruolo dei diversi comportamenti individuali(15).

1.4 FATTORI DI RISCHIO

Gli studi epidemiologici, negli anni, hanno identificato diversi fattori di rischio coinvolti nello sviluppo del melanoma cutaneo. Essi possono essere distinti in fattori ambientali e genetici/costituzionali; in realtà, è ormai ampiamente riconosciuto come tra predisposizione genetica ed esposizione ambientale esista una stretta interazione(9).

FATTORI AMBIENTALI:

- Ustioni solari e raggi UV: i raggi UVB (280–320 nm), sono i maggiori responsabili della carcinogenesi melanocitaria, poiché causa principale di ustioni cutanee e del danno diretto al DNA. Studi più recenti, però, hanno dimostrato che vi è anche un contributo dei raggi UVA (320–400 nm), che, al contrario degli UVB, agiscono prevalentemente attraverso meccanismi indiretti, inducendo la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e determinando stress ossidativo cellulare, favorendo l'accumulo di mutazioni genetiche. Gli UVA inoltre sembrano esercitare effetti immunosoppressivi, compromettendo i meccanismi di sorveglianza che normalmente contrastano lo sviluppo tumorale. (16)
- Stato socioeconomico: nonostante l'esposizione alle radiazioni ultraviolette rappresenti uno dei principali fattori eziologici coinvolti, si è dimostrato che la malattia risulta influenzata anche da aspetti sociali, in particolare dallo stato socioeconomico (*socioeconomic status*, SES)(17).

I soggetti appartenenti a classi sociali più elevate tendono a presentare un'incidenza più elevata del tumore, probabilmente a causa di una maggiore esposizione al sole, dovuta ad attività all'aperto, al turismo in località marittime e anche all'uso di dispositivi artificiali (esempio lettini abbronzanti). Parallelamente, tali individui, che, tendenzialmente, presentano una migliore istruzione, sono più accorti e dispongono anche dei mezzi per eseguire frequenti screening con conseguenti diagnosi precoci: aspetto che fa aumentare il numero di casi identificati(18). Al contrario, chi ha un basso stato socioeconomico e non ha ricevuto un'adeguata educazione, oltre a mettere in atto comportamenti scorretti come esporsi al sole (anche se con meno frequenza), senza un'opportuna protezione o con protezioni di bassa qualità, ha minori possibilità di accesso alle cure. Principalmente, dove la sanità è privata, infatti, non tutti i trattamenti sono inclusi nell'assicurazione sanitaria del cittadino; proprio per questa impossibilità di accedere alle visite specialistiche o alle terapie, la diagnosi di melanoma potrebbe essere ritardata. (19)

FATTORI GENETICI/COSTITUZIONALI

- Genetica: circa il 5/10% dei melanomi si presenta in un conteso familiare, quindi, con base genetica. CDKN2A è uno dei geni ad alta penetranza, responsabile di un 20-40% dei casi; esso codifica per le proteine p16 e p14 che regolano il ciclo cellulare.(20) Un altro gene coinvolto è CDK4, che, a causa della sua interazione con p16, se mutato causa un'attivazione incontrollata del ciclo cellulare.(21) BAP1 è un altro gene ancora che si associa a sindromi con melanomi cutanei e uveali; MITF e MC1R, invece, sono geni a penetranza intermedia che hanno effetti principalmente sulla proliferazione melanocitaria e sulla risposta al danno UV(20).
- Storia personale e familiare di melanoma: i pazienti che hanno già avuto un melanoma in passato o i parenti di questi, presentano un aumentato rischio di sviluppare altri tumori sia cutanei (quindi anche proprio melanomi), sia extracutanei. Ciò accade in primis per predisposizione genetica, ma anche per un possibile sistema immunitario più debole e meno efficace nel debellare il corpo dalle cellule cancerose(22). Inoltre, sono pazienti, che potrebbero avere una storia di esposizione solare scorretta, con accumulo di danni da raggi UV; la stessa cosa

può accadere nei familiari, con i quali non vengono condivisi solo i geni, ma anche le abitudini sbagliate, per esempio stare al sole per tempi prolungati senza le protezioni corrette (23).

- Fototipo: gli individui con pelle chiara, tante lentiggini, capelli biondi o rossi e occhi chiari, corrispondenti a un fototipo I e II secondo Fitzpatrick, hanno maggiore possibilità di sviluppare melanoma. Tali associazioni sono dovute soprattutto alla ridotta quantità di eumelanina, che svolge una funzione quasi di *schermo* nei confronti delle radiazioni UV. In coloro che hanno le caratteristiche sopraelencate, prevale invece la produzione di feomelanina, pigmento meno efficace nella fotoprotezione (24).
- Nevi: il numero totale di nevi è uno dei più importanti fattori di rischio per il melanoma. La probabilità aumenta progressivamente con l'incremento di essi, fino ad arrivare ai soggetti con più di 100 nevi, nei quali la suscettibilità al tumore è decisamente più elevata. Infatti, i nevi aumentano con l'esposizione ai raggi UV(25). A maggior ragione la presenza di nevi atipici/displastici è un fattore di rischio ulteriore, in quanto questo tipo correla più frequentemente con mutazioni genetiche simili a quelle osservate nel melanoma. Come per esempio la sindrome del nevo displastico o *Familial Atypical Multiple Mole Melanoma syndrome (FAMMM)*, nella quale si sviluppano un importante numero di nevi atipici, ed è data proprio dalla mutazione CDKN2A (26).

1.5 CLASSIFICAZIONE CLINICA

Il melanoma non corrisponde ad un'unica entità, ma ad un gruppo eterogeneo di tipologie che differiscono tra loro per genetica e conseguente clinica e aspetti istopatologici. I diversi tipi di neoplasia si diversificano anche sulla base della probabilità di insorgenza in specifiche classi di età o in specifici siti anatomici (27).

1.5.1 Melanoma Lentigo-maligna



Figura 1: melanoma lentigo-maligna (da sito DermNet)

Il melanoma lentigo maligna (LM) colpisce soprattutto gli uomini oltre i 60 anni, ma i dati epidemiologici sono un po' incompleti in quanto le lesioni vengono rimosse abbastanza precocemente. Tenzialmente, insorge su aree di cute danneggiate cronicamente dal sole; le sedi più frequenti sono guance, naso e tempie.

A livello clinico si presenta come una macchia pigmentata con margini irregolari e sfumati, dal colore variabile tra marrone e grigio/nero(28). Per via dei bordi frastagliati, indentati e della policromaticità, viene anche denominato a “*cartina geografica*”. Questa varietà clinica inizialmente appare simile a piccole lesioni tipo lentiggini che si allargano perifericamente, mantenendo una crescita superficiale intraepidermica.

L'evoluzione avviene in tempi molto più dilatati rispetto agli altri melanomi, spesso superiore ai 5 anni, infatti, proprio per questo, il suo decorso è considerato meno aggressivo(27).

Nelle fasi più precoci, tramite dermatoscopia, è possibile individuare la presenza di aggregati blu/grigi intorno ai follicoli.

Nel lentigo maligna, tendenzialmente, i melanociti, sia normali che maligni, restano confinati nell'epidermide, ma possono anche invadere il derma e approfondarsi con una velocità di 0,13mm/mese, fino a metastatizzare(29).

1.5.2 Melanoma a diffusione superficiale



Figura 2: Melanoma a diffusione superficiale (da sito dermatologialaser)

Il *superficial spreading melanoma* (SSM) rappresenta circa il 70% di tutti i melanomi, è più frequente sugli arti inferiori per quanto riguarda il sesso femminile e sul tronco per il sesso maschile. Può insorgere in un'ampia fascia di età, dai 30 ai 60 anni(30).

Inizialmente ha una crescita radiale intraepidermica di circa 1-2 anni, in cui la lesione è sottile e con diametro attorno ai 2 cm. Successivamente, inizia la fase di crescita verticale in cui la neoplasia invade il derma con velocità di crescita di 0.12 mm/mese e può anche assumere una forma più irregolare (29).

Clinicamente si presenta asimmetrico, con margini frastagliati, contorni sfumati e colori molto variabili (marrone chiaro, marrone scuro, nero, grigio, blu, rosso fino a bianco nelle aree di regressione). Di solito viene diagnosticato quando è di circa 6 mm, ma può essere riscontrato anche prima. Proprio alla luce delle caratteristiche elencate l'SSM è il melanoma che più di tutti rispetta le caratteristiche ABCDE (asimmetria, bordi non regolari, diversi colori, dimensioni ed evoluzione).

La dermoscopia del melanoma a crescita superficiale è molto studiata in quanto consente di visualizzare strutture tipiche e diagnostiche quali:

- reticolo pigmentato atipico;
- strie periferiche (*streaks*) irregolari, indice di crescita attiva;
- aree di pigmentazione irregolare;
- aree grigio-blu o biancastre con possibile pattern vascolare atipico(30).

1.5.3 Melanoma nodulare



Figura 3: melanoma nodulare (da sito iboolo.com)

Il melanoma nodulare è una delle forme che contribuisce alla maggior parte dei casi fatali, è molto aggressivo. Rappresenta circa un 15-20% dei casi e insorge soprattutto in età avanzata, senza particolari distinzioni tra uomo e donna. Testa, collo e dorso sono le sedi più frequenti di localizzazione(31).

Diversamente da quanto accade per il melanoma a diffusione superficiale, la forma nodulare esordisce con una crescita verticale, invadendo direttamente il derma a una velocità di circa 0.49 mm/mese: ciò gli conferisce una forte aggressività biologica(30).

All'obiettività appare inizialmente come una papula di consistenza carnosa e di dimensioni ridotte, ma con crescita rapida. A differenza del SSM, il colore, che varia dal bruno, al nero fino al blu, è più uniforme; esiste, però, anche il melanoma nodulare amelanotico, che, come dice il nome stesso, è deficitario del pigmento: situazione rara, ma più comune in questa tipologia di lesione che in altre. In certi casi, inoltre, la superficie può presentarsi erosa ed eritematosa con tendenza al sanguinamento e alla formazione di squamo croste(32).

A fronte delle caratteristiche appena descritte emerge come i criteri clinici ABCD non possano funzionare in modo adeguato al melanoma nodulare. In questa tipologia si applicano, perciò, i criteri EFG:

- E di *elevated*: lesione in rilievo rispetto alla pelle;
- F di *firm*: consistenza dura;

- G di *growing*: crescita rapida e progressiva.

Grazie all'osservazione di tali aspetti si può fare una buona diagnosi differenziale con altre lesioni nodulari sia benigne (come il nevo dermico, più molle al tatto e che non cresce nel tempo), che maligne (come il carcinoma basocellulare che presenta tutte le caratteristiche del melanoma nodulare tranne la crescita così rapida)(33).

Dal punto di vista dermoscopico, diversamente da quanto si può osservare nel melanoma a diffusione superficiale, non si riscontrano globuli irregolari associati ad alterazioni giunzionali, strutture di regressione, streaks o una rete pigmentata atipica. I reperti più frequenti sono rappresentati da velo bianco-blu e vasi atipici.

In microscopia confocale si vede bene che manca il disordine epidermico tipico del melanoma superficiale; le papille della giunzione dermo-epidermica sono difficilmente identificabili a causa dell'espansione tumorale nel derma. Caratteristica tipica di questa tipologia di melanoma, osservabile in confocale, sono i cosiddetti *cerebriform clusters*: aggregati cellulari con aspetto convoluto che ricorda le circonvoluzioni cerebrali.

L'istologia conferma la presenza di un nodulo abbastanza grande che si espande nel derma comprimendo l'epidermide; nel derma, inoltre, vi è un'elevata densità di melanociti atipici(34).

1.5.4 Melanoma acrale lentiginoso



Figura 4: melanoma acrale lentiginoso (da sito aimatmelanoma)

Il melanoma acrale lentiginoso (AM, *acral melanoma*) è una variante rara nell'etnia caucasica e abbastanza frequente, invece, nelle popolazioni asiatiche, afroamericane e ispaniche. Come si può intendere dal nome stesso insorge tipicamente nelle aree acrali glabre, quali per esempio palmi delle mani, dei piedi, dita e regione subungueale(35).

In questa tipologia di neoplasia i raggi UV sembrano avere un ruolo marginale, mentre ci sono studi che sostengono il contributo di microtraumi ripetuti (visto le frequenti lesioni plantari che insorgono a livello delle zone sottoposte a carico), oltre che della variabilità genetica legata all'etnia.

Clinicamente l'AM si presenta, nelle fasi iniziali, come una macula pigmentata irregolare che cresce lentamente; con il tempo, però, la lesione può ispessirsi, ulcerarsi, fino a diventare nodulare(36).

Le lesioni localizzate nell'area della piega ungueale talvolta hanno un segno distintivo detto “segno di Hutchinson”, dato da una diffusione periungueale della pigmentazione. In tali sedi solo la biopsia può confermare la diagnosi(27).

Il reperto dermoscopico più caratteristico è il *parallel ridge pattern*: pigmentazione localizzata sulle creste papillari dei polpastrelli, dei palmi delle mani e dei piedi. Inoltre, si possono osservare aree di regressione, aree di pigmentazione irregolare e possibile pattern vascolare atipico.

All'istologia si può notare localizzazione soprattutto lungo la giunzione dermo-epidermica; nelle fasi precoci ci sono tanti melanociti singoli con ampia estensione laterale, mentre, nelle fasi successive compaiono nidi melanocitari, che invadono il derma e crescono anche in verticale.

La diagnosi differenziale va fatta con particolare attenzione con il nevo acrale, che tende a non modificarsi nel tempo e ad avere dimensioni inferiori ai 7mm (36).

1.5.5 Tipologie rare di melanoma

Esistono tipologie molto rare di melanoma, che costituiscono circa il 10% dei casi, tra cui:

- ✓ Melanoma amelanotico: la variante rara più frequente. Clinicamente si presenta rosa/rosso, simile al carcinoma basocellulare, totalmente privo di melanina o con molta poca (ipomelanotico). È uno dei melanomi che più facilmente vengono persi durante la diagnosi;
- ✓ Melanoma desmoplastico: variante fibrotica, piuttosto aggressiva. Clinicamente risulta simile a fibromi, cicatrici o lesioni infiammatorie croniche. Con l'uso del dermatoscopio si possono individuare molte strutture bianche, pochi pigmenti e sottili vasi atipici, infatti, anche per l'occhio più esperto risulta difficile da individuare;
- ✓ Melanoma spitzoide: imita i nevi di Spitz benigni, infatti andrebbe distinto da essi, ma è molto complesso. In dermoscopia presenta aree rosa e bianche, asimmetria e pattern vascolari complessi;
- ✓ Melanoma novoide: variante molto simile sia clinicamente che dermoscopicamente a un comune nevo benigno, va posta moltissima attenzione a lievi cambiamenti e piccole asimmetrie(37);
- ✓ Melanoma delle mucose: diagnosi difficile, poiché è localizzato in sedi più occulte, spesso è una forma nodulare, quindi biologicamente aggressiva. Fondamentale che dentisti, ginecologi e urologi valutino adeguatamente le mucose per individuare precocemente la comparsa di eventuali lesioni(38).



Figura 5: melanoma desmoplastico (da sito DermNet)

1.6 PREVENZIONE

Melanoma e carcinomi cutanei in generale rappresentano un problema sempre più importante per la salute pubblica globale, di conseguenza fare prevenzione è fondamentale, visto che bastano anche piccole accortezze.

Sicuramente (come già affrontato), gli UV rappresentano il più impattante fattore di rischio per il melanoma. Proprio per questo usare correttamente creme solari e indumenti protettivi, cercare l'ombra evitando l'esposizione durante le ore centrali della giornata è il primo passo per evitare rischio di insorgenza della neoplasia.

La prevenzione va iniziata molto precocemente: il danno degli UV agisce già nei primi anni di vita; quindi i bambini e le famiglie vanno educati ad un'esposizione solare protetta e accorta(39).

Il primo paese ad avviare una campagna di salute pubblica è stata l'Australia, visto anche l'elevata incidenza; infatti, quasi 2/3 della popolazione sviluppa un tumore della pelle entro i 70 anni. L'organizzazione no profit *Cancer Council Victoria*, con i finanziamenti del governo, ha ideato il programma *Sun Smart* che promuove l'uso di abbigliamento protettivo, di cappelli e occhiali da sole, l'applicazione di crema solare e la ricerca di ombra. Grazie ad esso, le stime dicono che ci sia stata prevenzione di 50.000 casi di cancro e 1.400 vite salvate (40).

Nonostante oramai sia ben noto il rischio di esposizione mal controllata ai raggi UV, nella popolazione vi è ancora difficoltà nell'attuare semplici comportamenti nel modo corretto. Persiste l'idea dell'abbronzatura come ideale estetico positivo, che porta a un frequente utilizzo di lettini abbronzati ed esposizione solare intensa senza protezioni per un colorito più scuro in tempi più brevi(39).

Quella appena citata consiste nella prevenzione primaria, esiste però, come per tanti altri tipi di tumore, anche la prevenzione secondaria. Quest'ultima è necessaria per individuare e proteggere maggiormente i soggetti ad alto rischio di sviluppare melanoma. Alcune linee guida suggeriscono controlli ogni 3-6 mesi, altre annualmente; non c'è ancora un pensiero univoco, ma quello che è certo è la necessità di porre maggiore attenzione a quei pazienti che presentano più fattori di rischio (come per esempio tanti nevi, storia familiare o precedente melanoma, ecc.).

Oltre alla prima valutazione clinica, l'esame con il dermoscopico riveste un ruolo fondamentale nella diagnosi precoce, migliorandone l'accuratezza e riducendo il numero di escissione di lesioni benigne(41).

Un metodo semplice e molto economico di screening, anche se non totalmente accurato è rappresentato dall'autoesame. Esso consiste nell'osservazione dei criteri ABCD (A per asimmetria, B per bordi irregolari, C per colore, D per dimensione maggiore di 6 mm), è stato sviluppato nel 1985 e successivamente vi è stata aggiunta la lettera E che indica l'evoluzione. In questo modo il paziente, guardandosi, tiene sotto controllo direttamente

i suoi nevi, cercando con un rapido e semplice schema mentale di vedere se vi sono cambiamenti evidenti; ovviamente non è immediato e attuabile su tutte le aree del corpo, ma i soggetti possono essere istruiti e l'aumento della rilevazione delle lesioni è indubbio(40).

1.7 DIAGNOSI

1.7.1 Clinica

Riconoscere un melanoma, soprattutto nelle fasi precoci e nei pazienti con tanti nevi anche atipici, risulta piuttosto complesso(42).

Come per tutte le viste mediche è necessario partire da un'anamnesi completa, facendo al paziente domande riguardanti, per esempio:

- La lesione: se è cambiata nel tempo come dimensioni, forma o colore;
- La sua pelle: se ha tanti nevi, osservando anche di che fototipo di Fitzpatrick si tratta (I e II sono più a rischio);
- Le sue abitudini con l'esposizione solare: se si espone o è stato esposto al foto danno o, se invece, vengono utilizzate le giuste protezioni e accortezze;
- La sua storia personale: se ha avuto altri melanomi, ma anche altri tumori cutanei o altre neoplasie in generale;
- La sua storia familiare: se un parente prossimo o lontano ha storia di neoplasie soprattutto cutanee e se vi è predisposizione genetica.

Un appunto riguarda la presenza di numerosi nevi: è sicuramente un fattore di rischio importante, ma una metanalisi del 2017 ha constatato che la maggior parte dei melanomi insorgono ex novo; la valutazione clinica (passo successivo dopo l'anamnesi) deve quindi essere globale, non concentrata su nevi già presenti(7).

Nella valutazione clinica globale un esame obiettivo completo e attento, fatto alla luce giusta è fondamentale.

I criteri ABCD (nel 2004 venne aggiunta la E) furono ideati proprio con lo scopo di istruire medici di base e soprattutto popolazione generale a fare un primo sommario esame obiettivo della pelle per cercare di riconoscere almeno le lesioni più evidenti(43).

Nonostante l'utilità di questi criteri, l'accuratezza diagnostica non è ovviamente perfetta. La sensibilità risulta abbastanza buona, soprattutto grazie alla E di *evolution*, poiché il cambiamento di una lesione è uno dei segnali di allarme più importanti. Infatti, alcuni melanomi, almeno inizialmente, possono essere relativamente piccoli e simmetrici, ma avere graduali modifiche nel corso del tempo. Per quanto riguarda la specificità il discorso è più complesso: l'affidabilità è più limitata. Molte lesioni anche benigne possono presentare comunque asimmetria, bordi irregolari e variazioni di colore, aspetti che portano ad eseguire biopsie inutili e a diversi falsi positivi, con annessa preoccupazione del paziente. Concentrandosi sul diametro ($D > 6$ mm), tale criterio non risulta più affidabile come un tempo, visto che molti melanomi vengono diagnosticati anche da molto piccoli: affidarsi eccessivamente alla dimensione può ridurre la sensibilità precoce(44).

L'ABCDE è utilizzabile soprattutto per il melanoma a diffusione superficiale, mentre, proprio per i motivi sopra elencati, è più difficile l'applicabilità per i melanomi che non rispettano la presentazione classica secondo tali criteri (come il melanoma nodulare, quello desmoplastico o quello amelanotico). Inoltre, nei più giovani, in cui già è più raro diagnosticare un melanoma, quest'ultimo, quasi sempre, si presenta non rispettando di criteri ABCDE (45).

Mentre i criteri ABCDE vengono utilizzati principalmente per una singola lesione, anche isolata, un altro segno basato sull'osservazione è quello del "brutto anatroccolo" (*Ugly Duckling Sign*). Quest'ultimo è utile nei pazienti con numerosi nevi, per poter identificare lesioni che appaiono diverse dal pattern generale del soggetto; spesso un melanoma appare proprio differente da tutti gli altri nevi e, in tal modo, può essere diagnosticato precocemente anche se non rispetta perfettamente l'ABCDE(46).

L'ABCDE e il segno del "brutto anatroccolo" hanno una sensibilità simile, riconoscendo un numero comparabile di melanomi; mentre la specificità è maggiore per l'*Ugly Duckling Sign*: ha meno probabilità di dare falsi positivi. Quindi, il segno del "brutto anatroccolo" non sostituisce i criteri precedenti, ma li integra, ponendo particolare attenzione a quelle lesioni diverse dalle altre in pazienti potenzialmente più a rischio(47).

La Glasgow 7-point checklist è uno strumento ulteriore per la valutazione clinica delle lesioni; fu sviluppata nel Regno Unito e successivamente rivisitata. Essa comprende tre caratteristiche principali, che valgono 2 punti ciascuna:

- Cambiamento di forma;
- Cambiamento di dimensione;
- Cambiamento di colore;

e quattro caratteristiche minori, che valgono 1 punto ciascuna:

- Diametro > 7mm;
- Infiammazione;
- Sanguinamenti;
- Alterazioni sensoriali.

La diagnosi di melanoma è sospetta se il punteggio risulta maggiore o uguale a tre.

La 7-point checklist ha una sensibilità molto alta: pochi falsi negativi e buona capacità di screening. La specificità, invece, come nel caso dei criteri ABCDE, è più bassa: anche lesioni benigne possono raggiungere un punteggio maggiore o uguale a tre, causando possibili biopsie non necessarie.

Questo sistema risulta semplice da applicare, anche per medici non così esperti, ma deve essere interpretata con cautela, non è sufficiente per la diagnosi definitiva(48).

Nonostante l'integrazione dei vari criteri diagnostici citati, alcune lesioni rimangono comunque difficili da individuare. Infatti, come già accennato, le varianti di melanoma meno frequenti (nodulare, desmoplastico, amelanotico o ipomelanotico, dell'unghia e quello pediatrico), si dissociano dalla presentazione classica del melanoma, assomigliando molto anche a patologie benigne della cute(37).

Proprio per questo motivo sono stati ideati dei criteri clinici alternativi per le lesioni più particolari:

- ▲ Per i melanomi nodulari o con poca pigmentazione, che possono spesso sembrare innocui per la loro presentazione clinica sono stati ideati i criteri appositi **EFG** (E sta per *elevated*, quindi lesione rilevata rispetto al piano della cute, F sta per *firm* quindi consistenza compatta/dura, G sta per *growing* ovvero crescita rapida e progressiva)(32).
- ▲ Discorso analogo per i melanomi dell'apparato ungueale per i quali non vale il classico **ABCD**, ma ne è stato ideato un altro apposito in cui la **A** sta per *age, african americans, asian* (popolazioni in cui questo tipo di melanoma è più frequente, mentre l'età di insorgenza è intorno ai 50-70 anni); la **B** sta per *brown-black band* e *breadth* (aspetto più rilevante dal punto di vista clinico): esso si presenta come una banda longitudinale marrone-nera di circa 3 mm con margini sfumati e disomogeneità anche cromatiche; la **C** sta per *change* (molto simile al concetto di *E evolving* del melanoma cutaneo classico); la **D** sta per *digit involved*, infatti questo tipo di lesione spesso interessa dita quali pollice, alluce o indice; la **E** sta per *Extension (Hutchinson sign)*: il pigmento tende a estendersi sulla piega ungueale prossimale e/o laterale, anche se va fatta attenzione perché non accade sempre; la **F** sta per *family/personal history*.(49)
- ▲ Anche per il melanoma pediatrico sono stati scelti criteri adeguati differenti dai classici in cui **A** sta per *amelanotic*, infatti molte lesioni nei bambini non sono del marrone/nero che ci si aspetterebbe, ma bensì rosa/rosse; la **B** sta per *bleeding* e *bump* (molte lesioni si presentano sanguinanti e rilevate); la **C** sta per *color uniformity*; la **D** sta per *de novo* e *any diameter*: molti melanomi nei bambini nascono non da un nevo preesistente e, inoltre, possono essere anche più piccoli dei 6 mm presi solitamente come riferimento; la lettera **E** di *evolution* rimane fondamentale anche nei bambini(50). Per il paziente pediatrico è stato proposto anche un altro metodo più corto e "semplice": il CUP in cui la **C** sta per *color pink*, la **U** sta per *ulceration* e, infine la **P** sta per *pyogenic granuloma-like lesions or pop-up of new lesions* (le lesioni possono essere simili a granulomi piogenici e comparire improvvisamente)(51).

1.7.2 Dermatoscopia

La diagnosi puramente visiva, basata solo sulla clinica, per il melanoma, ha una sensibilità limitata. Proprio per questo è indispensabile l'utilizzo della dermatoscopia: tecnica non invasiva che, attraverso uno strumento portatile chiamato dermatoscopio, consente di visualizzare strutture presenti nell'epidermide, nella giunzione dermoepidermica e nel derma papillare, che solitamente non sarebbero visibili a occhio nudo(52).

La dermatoscopia è, quindi, uno strumento fondamentale per la diagnosi precoce: come dimostra una metanalisi di 26 studi l'associazione di dermatoscopio più valutazione clinica aumenta notevolmente la specificità (92% vs 76%), il problema resta la sensibilità (simile a quella della valutazione clinica); anche con l'utilizzo di tale strumento si fatica a ridurre escissioni inutili. Inoltre, esistono melanomi molto precoci, che sono dermoscopicamente poveri, per i quali è fondamentale una valutazione globale molto attenta(53).

La superficie della pelle, di norma, riflette molta luce, che impedisce di vedere le strutture sottostanti. Il principio fisico che sta dietro alla dermoscopia è volto a ridurre la riflessione cutanea proprio per ovviare a tale problema. Ciò può essere fatto in due modi: è sempre necessaria una lente (quella del dermatoscopio) e fra essa e la cute può essere messo o un mezzo di immersione come alcol, gel o olio oppure ancora si possono applicare filtri polarizzanti incrociati. Nel primo caso il mezzo, possedendo un indice di rifrazione simile a quello dello strato corneo, diminuisce la riflessione speculare e favorisce la trasmissione della luce, consentendo la visualizzazione delle strutture epidermiche e della giunzione dermo-epidermica. Nel secondo caso, invece, la luce emessa viene filtrata attraverso un polarizzatore che ne seleziona un'unica direzione di oscillazione. La luce riflessa superficialmente dalla cute mantiene lo stesso piano di polarizzazione e viene, quindi, bloccata da un secondo filtro polarizzatore orientato in modo ortogonale. In tal modo, viene eliminato selettivamente il riflesso superficiale. Quest'ultima tecnica consente la visualizzazione di strutture più profonde, come il derma superficiale e i vasi sanguigni(54).

La dermatoscopia sfrutta il colore riflesso per capire la correlazione con la profondità e l'istologia della lesione. Il nero indica melanina nello strato corneo o comunque molto superficiale; il marrone nell'epidermide o giunzione dermo-epidermica; blu/grigio se situata nel derma (*effetto Tyndall: quando la luce attraversa particelle molto piccole, le*

lunghezze d'onda più corte, quindi quelle blu, vengono diffuse più delle altre). Il colore rosso, invece, indica la vascolarità, congestione o sanguinamento; il bianco è associato ad alterazioni del collagene; il giallo a cheratina o sebo; infine, l'arancione a croste o essudato. Anche il numero di colori è associato alla malignità: le lesioni benigne hanno tendenzialmente 1/2 colori, mentre il melanoma ne ha più di tre(55).

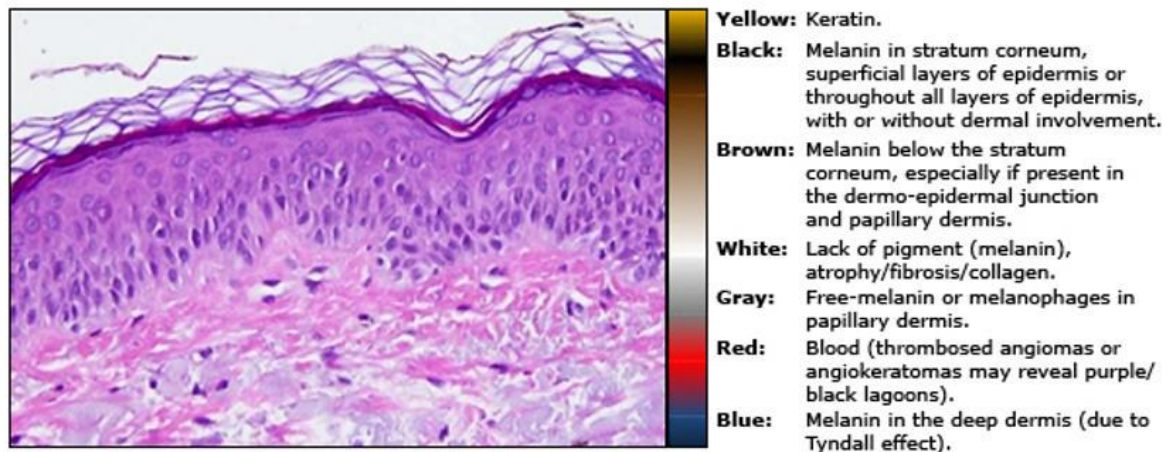


Figura 6: colori visibili in dermatoscopia (da UpToDate)

Per la valutazione delle caratteristiche dermoscopiche più frequentemente associate al melanoma è stata ideata una checklist di 7 punti (*Seven point checklist di Argenziano*), con tre criteri maggiori:

- Reticolo pigmentato atipico (*atypical pigment network*), con linee irregolari, maglie non uniformi, interruzioni improvvise e distribuzione asimmetrica: indice di proliferazione disordinata dei melanociti;
- Velo blu-bianco (*Blue-whitish veil*): il blu indica melanina nel derma, mentre il bianco ipercheratosi, è associato a melanoma invasivo;
- Pattern vascolare atipico (*atypical vascular pattern*): vasi disorganizzato, indica perdita della normale architettura vascolare con neoangiogenesi tumorale, tipico dei melanomi avanzati o non pigmentati;

e quattro criteri minori:

- Strie irregolari (*irregular streaks*): ai margini della lesione, distribuite in modo asimmetrico, indicano crescita radiale disordinata;

- Macchie irregolari (*irregular pigmentation*): aree con colori differenti anche per intensità;
- Punti/globuli irregolari (*irregular dots/globules*): strutture rotonde o ovali con distribuzione asimmetrica nella lesione;
- Strutture di regressione (*regression structures*): con zone bianche, segno di fibrosi e zone blu segno di melanofagi dermici, indice di tentativo di risposta immunitaria dell'organismo.

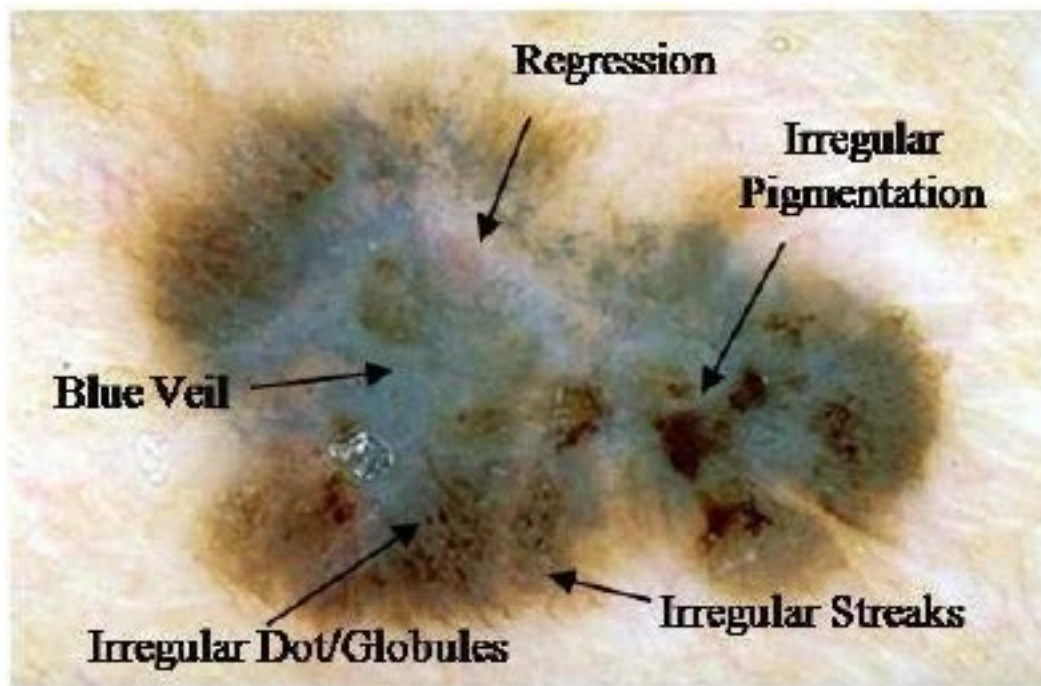


Figura 7: caratteristiche dermoscopiche della 7 point checklist (da sito ResearchGate)

La prima versione (1998) diceva che un punteggio maggiore o uguale a tre consentiva di fare diagnosi di melanoma. Questo punteggio veniva calcolato assegnando due punti per i criteri principali e un punto per quelli secondari. Però, nella versione rivisitata del 2011, ogni criterio vale un punto e la soglia per decidere se asportare la lesione o meno è stata abbassata a maggiore o uguale a uno.

Ovviamente, nonostante, l'aumento della sensibilità ottenuto dalla revisione della checklist, gli autori stessi evidenziano come sia fondamentale un'integrazione con le diverse metodiche a disposizione(56).

1.7.3 Microscopia laser confocale

Nonostante la dermoscopia migliori molto la diagnosi clinica, ci sono lesioni che rimangono dubbie: qui entra in gioco la microscopia laser confocale a riflettanza (RCM). Quest'ultima è una tecnica di imaging non invasiva, che consente di osservare gli strati della pelle quasi a risoluzione istologica, ma in vivo, senza necessità di biopsia(57).

Il VivaScope è lo strumento ad oggi più diffuso, il primo fu il VivaScope 1500 commercializzato negli anni 2000, adesso si è arrivati fino al 3000.

Il VivaScope 1500 è uno strumento fisso dotato di un braccio meccanico e di un anello adesivo utile per stabilizzare la parte di cute interessata durante l'esame. Il dispositivo utilizza un laser da 830 nm e consente l'acquisizione di immagini ad alta risoluzione, fino al derma superficiale. Il dispositivo può anche creare mosaici ottenuti dall'unione di più immagini microscopiche, permettendo una valutazione ampia e dettagliata della lesione.

Il VivaScope 3000, invece, è una sonda portatile, più maneggevole che migliora l'analisi di aree anatomiche difficili da raggiungere come naso, orecchie, palpebre e superfici irregolari.

Entrambi gli strumenti per la RCM sono composti da:

- Una **sorgente laser** a diodo che penetra abbastanza bene la cute, ma avendo una potenza inferiore a 35 mW, è sicura per l'uso clinico ripetuto. La luce può arrivare fino al derma superficiale e si ottiene un buon contrasto ottico;
- **Sistema ottico**: il laser sopra citato passa attraverso specchi e lenti fino ad un obiettivo che focalizza la luce in un singolo punto della cute. Il sistema confocale, quindi, illumina un solo punto per volta e, allo stesso tempo, raccoglie luce solo da quel piano. La cute viene esplorata sia in profondità, sia lateralmente;
- **Scanner laser** che scansiona ogni punto della cute singolarmente, affinché poi il computer ricostruisca l'immagine finale;
- **Pinhole confocale**: un piccolo foro posto davanti al detector che blocca la luce proveniente dai piani fuori fuoco e, allo stesso tempo, lascia passare solo la luce riflessa dal piano illuminato dal laser. È ciò che rende confocale il microscopio e che consente di produrre immagini nitide con elevata risoluzione;

- Dopodiché la luce passa nel **detector** che ha il compito di trasformare il segnale luminoso in segnale digitale.

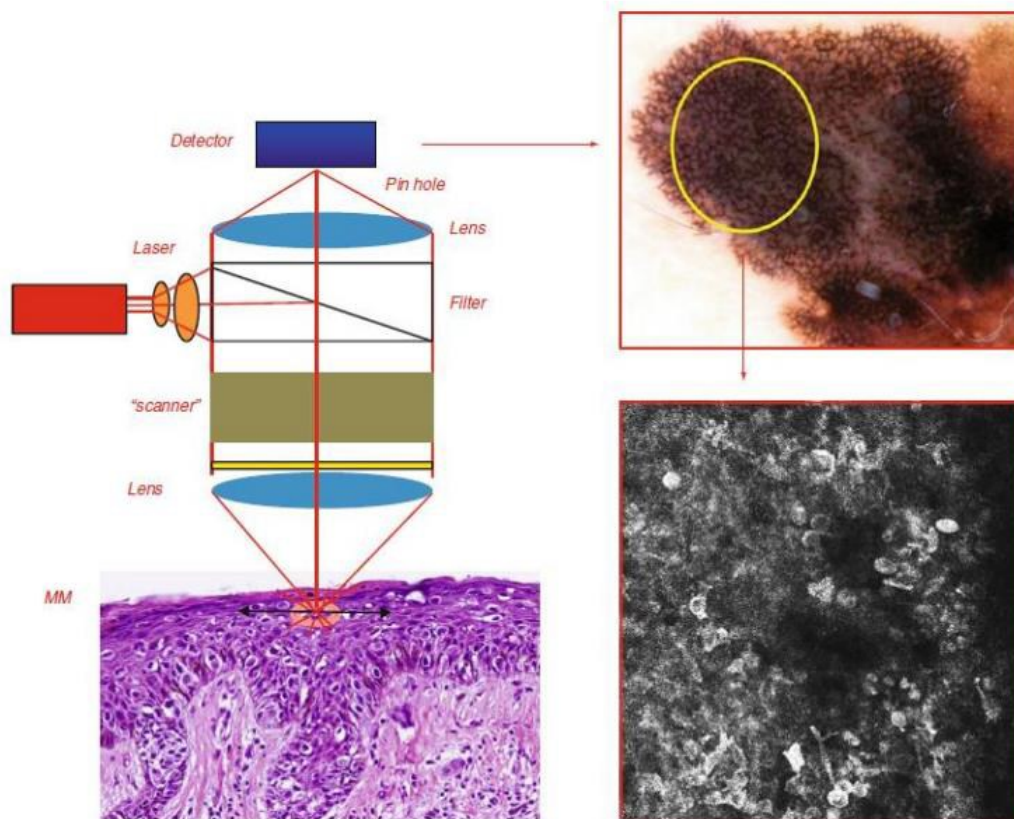


Figura 8:schema illustrativo RCM(58)

Alla fine, il software costruirà immagini in scala di grigi e, ogni pixel, corrisponde alla quantità di luce riflessa. Le strutture quali collagene, cheratina e melanina, che sono più riflettenti, appariranno bianche brillanti; mentre quelle meno riflettenti saranno scure. Le immagini dell' RCM sono, quindi, in bianco e nero, ma molto simili a sezioni istologiche(59).

Lo svolgimento dell'esame è molto semplice: il paziente viene fatto accomodare nella posizione più confortevole possibile affinché non si muova troppo; successivamente, la cute da analizzare viene detersa e sulla lesione si applica un gel o un olio, necessario per migliorare il contatto con dispositivo e per ridurre al minimo la dispersione della luce. Sulla pelle viene fissato un anello adesivo per stabilizzare la sonda, cosicché la distanza rimanga costante e si possano ottenere immagini più nitide.



Figura 9: processo di acquisizione immagini con VivaScope 1500 da (58)

Diversamente da quanto accade per l'istologia, le immagini sono acquisite in sezioni orizzontali parallele alla superficie cutanea, favorendo una valutazione più dinamica e stratificata.

Attraverso un sistema di scansioni progressive, l'operatore acquisisce immagini a differenti profondità della cute.

Le immagini possono essere:

- Statiche singole: valutano dettagli cellulari specifici;
- Stack verticali: immagini a profondità crescente che studiano i diversi strati della cute;
- Mosaics: immagini contigue assemblate per visualizzare aree più ampie.

La durata della procedura varia molto, ma in media è sui 10-20 minuti(60).

L'interpretazione dell'esame rimane comunque soggettiva, perché dipende dall'operatore che lo esegue.

Con questa tecnica, nello specifico, si vanno ad osservare le eventuali atipie presenti nell'epidermide, nella giunzione dermo-epidermica e nel derma superficiale(58).

Negli strati più superficiali dell'epidermide si può osservare:

- ✓ Pattern dei cheratinociti **HONEYCOMBED**: rappresenta la normale distribuzione dei cheratinociti nell'epidermide; i bordi cellulari risultano più luminosi, mentre i nuclei sono scuri. L'aspetto dei cheratinociti è poligonale, con dimensioni omogenee; tipico soprattutto dello strato spinoso e granuloso.

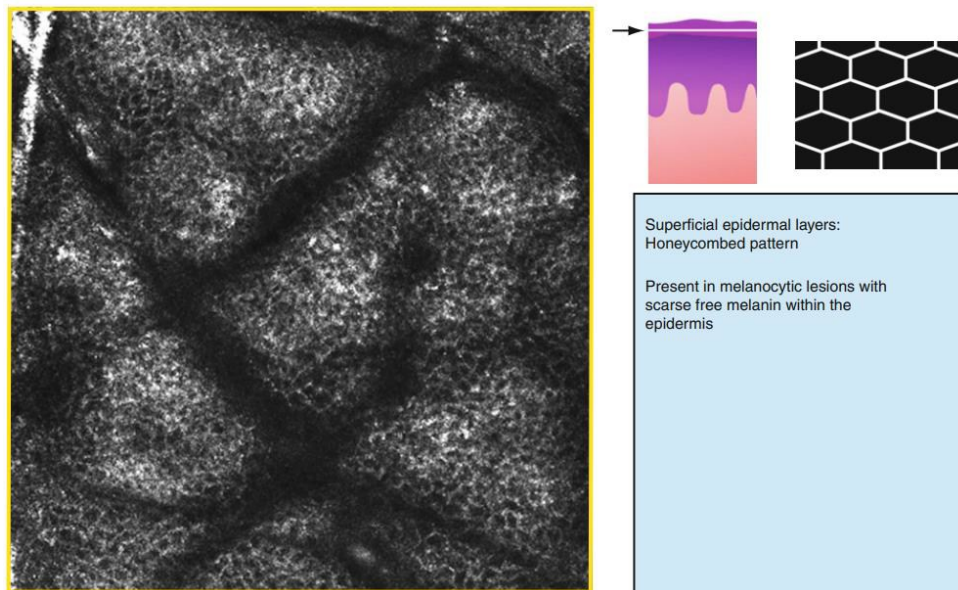


Figura 10: pattern honeycombed(58)

- ✓ Pattern **COBBLESTONE**: si può osservare soprattutto nello strato basale, in aree pigmentate benigne. Le cellule sono più piccole e compatte con morfologia rotondeggiante. L'organizzazione epidermica è comunque conservata, ma indica una lesione benigna.

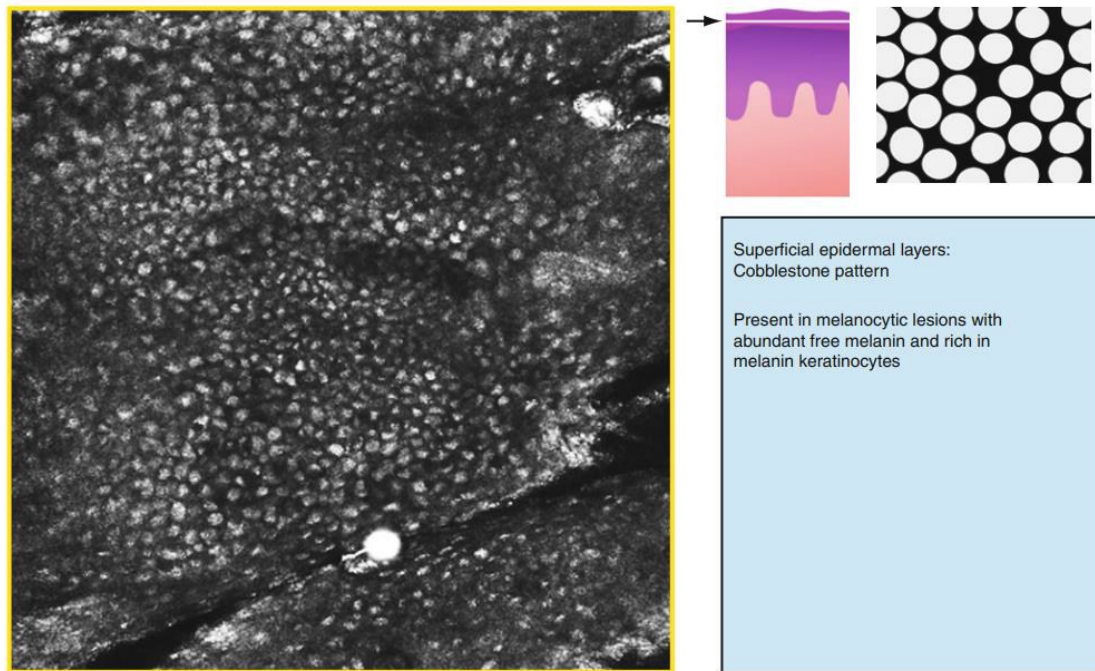


Figura 11: pattern cobblestone(58)

- ✓ Pattern **DISARRANGED** (*atypical honeycomb pattern*): perdita della regolare geometria, con cheratinociti dalle dimensioni variabili, disomogeneità cellulare e contorni irregolari. È presente sia in lesioni melanocitiche che non, ma è tendenzialmente indice di atipia dei cheratinociti e displasia epidermica, quindi di malignità.

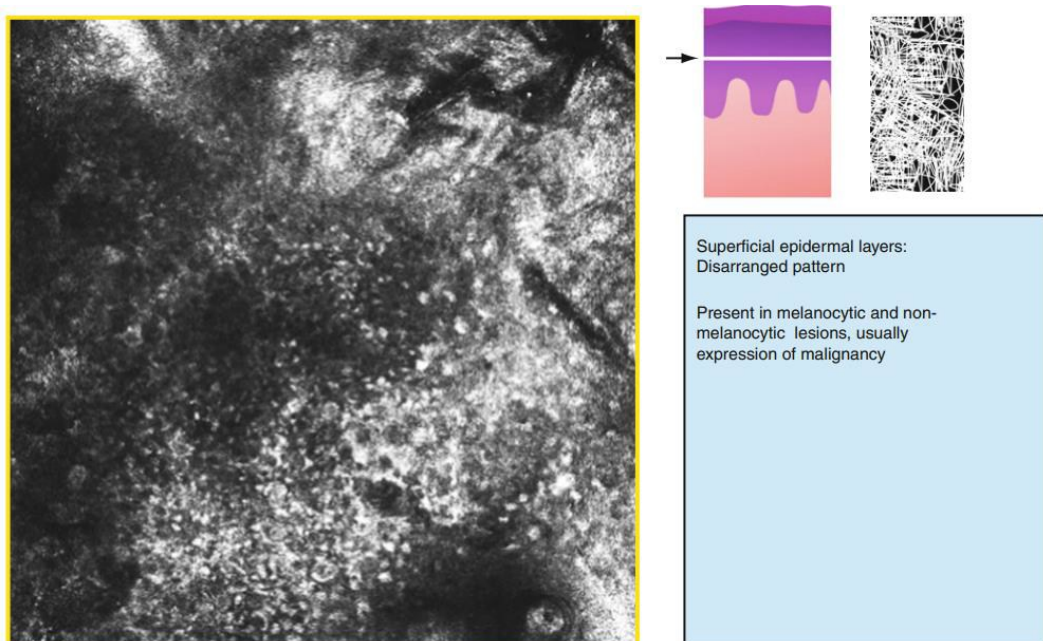


Figura 12: pattern disarranged(58)

- ✓ **CELLULE PAGETODI:** sono cellule luminose, localizzate negli strati soprabasali, più grandi dei cheratinociti circostanti e con morfologia irregolare. Le cellule pagetoidi possono essere rotondeggianti, dendritiche o pleomorfe. Le rotondeggianti, come si evince dal nome stesso, sono cellule grandi rotonde o ovalari, ben delimitate e molto rifrangenti; frequentemente associate a melanoma superficiale diffuso e proliferazione melanocitaria atipica intraepidermica. Quelle dendritiche presentano un aspetto stellante/ramificato, con lunghi prolungamenti, citoplasma brillante e nucleo scuro; frequentemente associate a melanoma lentigo maligna, melanoma in situ e melanoma a diffusione superficiale. Importante non confonderle con le cellule del Langherans. Infine, quelle pleomorfe, sono ovviamente cellule con marcata variabilità (possono presentarsi sia rotondeggianti che dendritiche); corrispondono a uno dei reperti più suggestivi di malignità in RCM. (61)

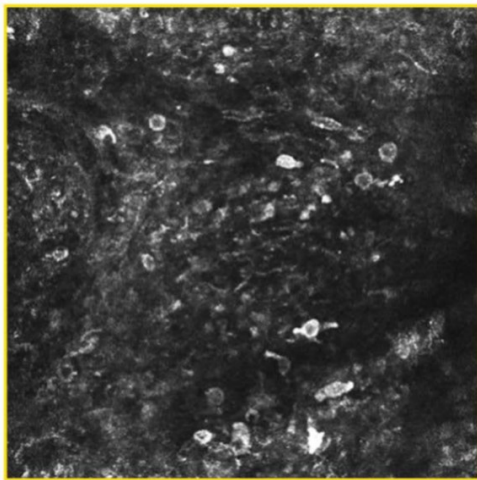


Figura 13: cellule pagetodi rotondeggianti (58)

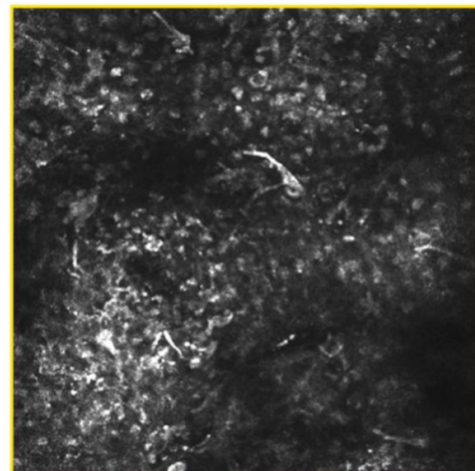


Figura 14: cellule pagetoidi dendritiche (58)

Dopo l'epidermide viene valutata la giunzione dermo-epidermica (DEJ), nella quale si analizzano: organizzazione architetturale globale, aspetto delle papille dermiche e presenza o meno di cellule atipiche.

Innanzitutto, il pattern architetturale della DEJ può essere:

1. **RINGED:** chiamato così per l'aspetto ad anelli, con papille dermiche ben delimitate circondate da cellule basali iperriflettenti e regolari. Corrisponde alla

proliferazione regolare di melanociti giunzionali; tipico di nevi benigni e cute pigmentata normale.

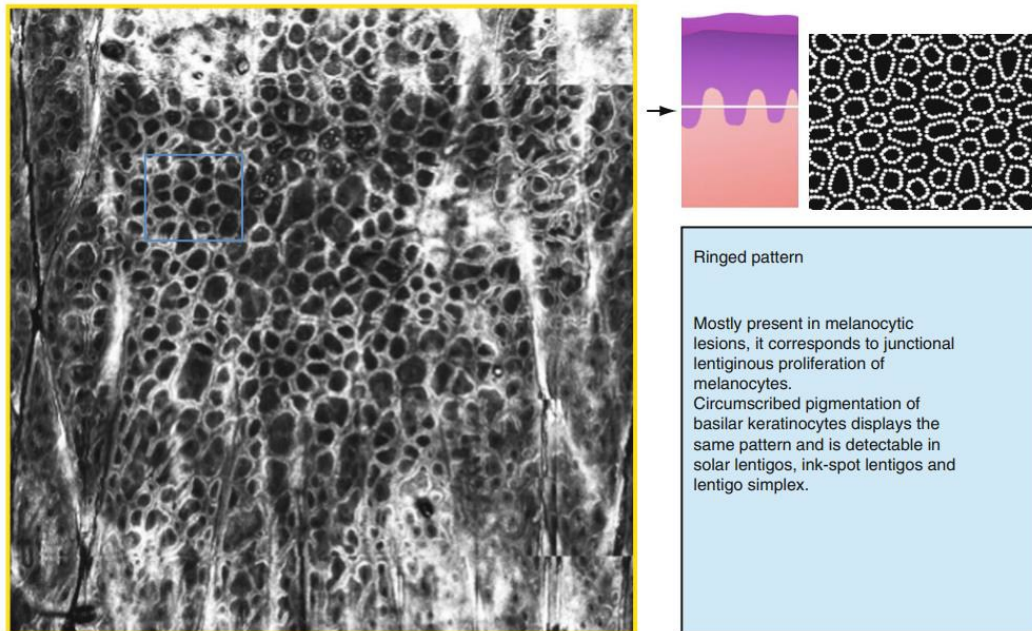


Figura 15: ringed pattern(58)

2. **MESHWORK:** composto da rete di linee luminose interconnesse, con ampliamento degli spazi interpapillari e ispessimento giunzionale. Tipico di nevi giunzionali e nevi composti, quindi indice di benignità, soprattutto se non sono presenti atipie o asimmetrie.

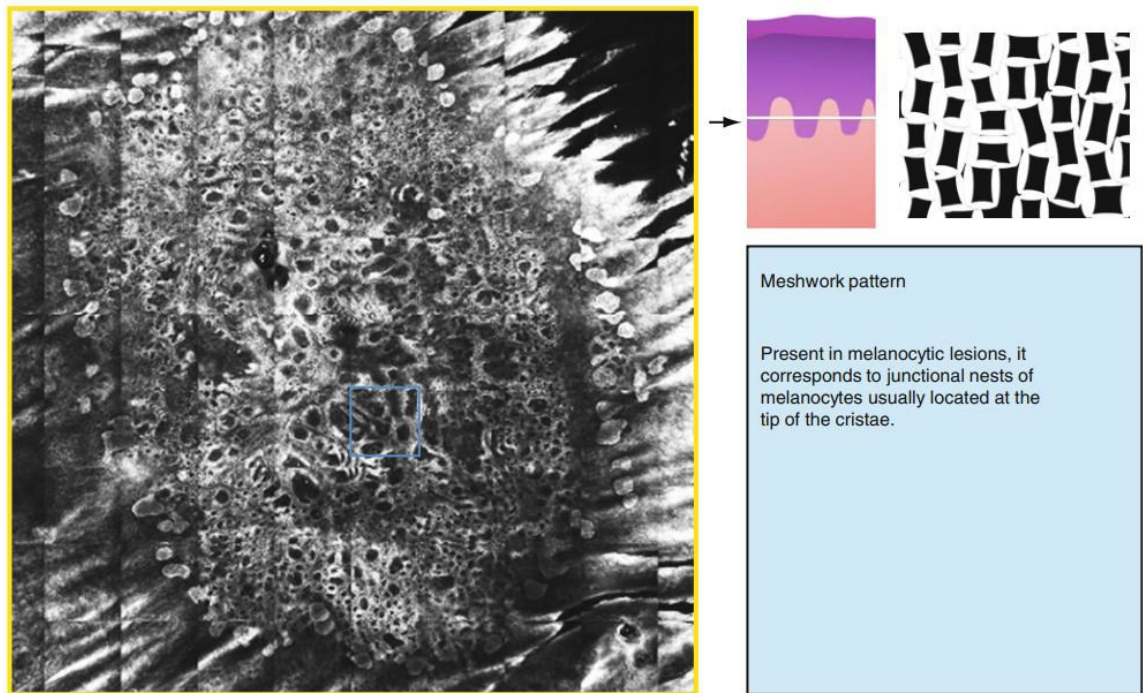


Figura 16: meshwork pattern(58)

3. **CLOD:** formato da aggregati/nidi melanocitari brillanti; corrisponde a nidi dermici o composti di melanociti. Tipico di nevi dermici e composti; solitamente le cellule atipiche sono assenti o minime.

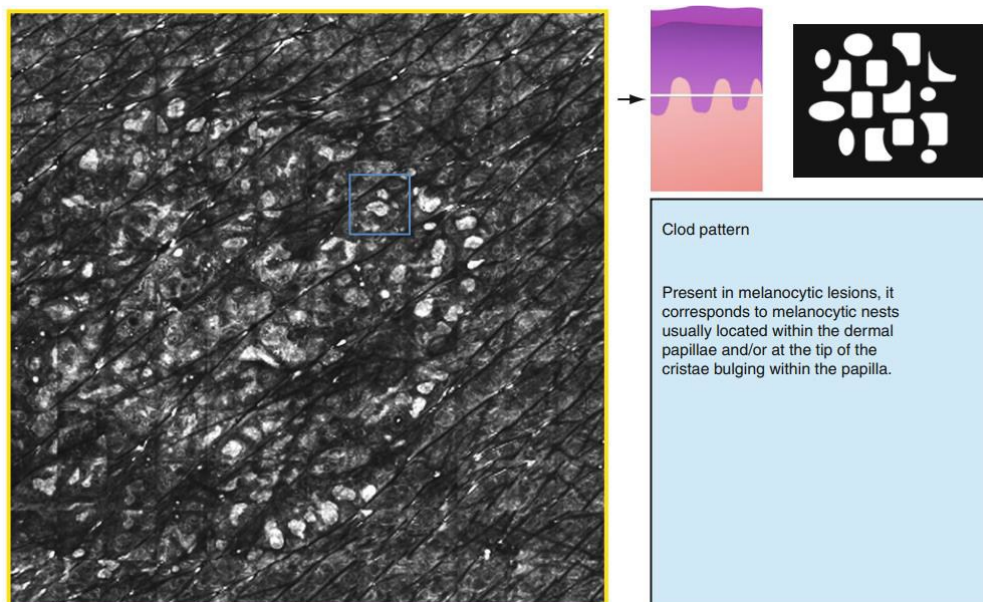


Figura 17: clod pattern(58)

4. **DISARRANGED** (*non specific*): pattern più importante nel sospetto di melanoma. Vi è una perdita dell'architettura normale della giunzione dermo-epidermica, con disorganizzazione globale e aree senza struttura definita. Le cellule atipiche sono frequenti.

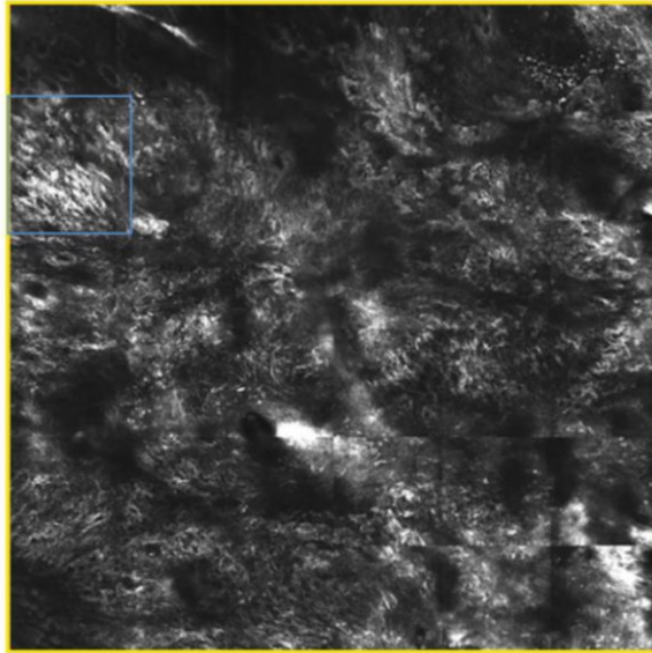


Figura 18: disarranged pattern(58)

Le papille dermiche, invece, possono essere **EDGED** o **NON-EDGED**. Le prime sono papille dermiche ben demarcate, con bordo luminoso e continuo; indicative di architettura conservata, associate a ringed pattern e tipiche di nevi benigni. Le NON-EDGED, invece, sono papille non più chiaramente delimitate, con contorni sfumati, a tratti interrotte da cellule atipiche brillanti. Associate spesso a melanoma iniziale. Anche la presenza di entrambe le situazioni è associata a lesioni maligne o displastiche. (62)

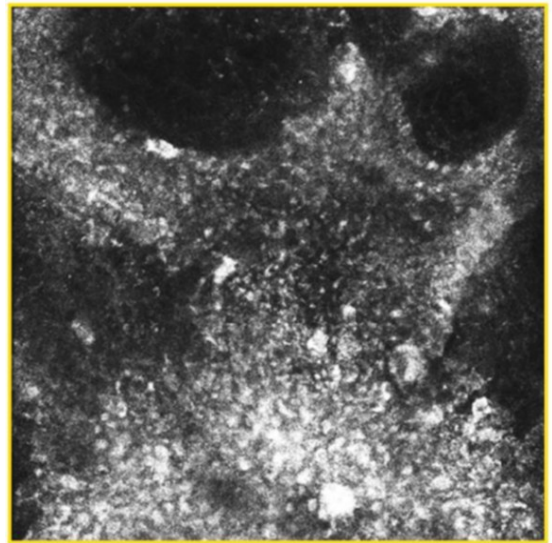
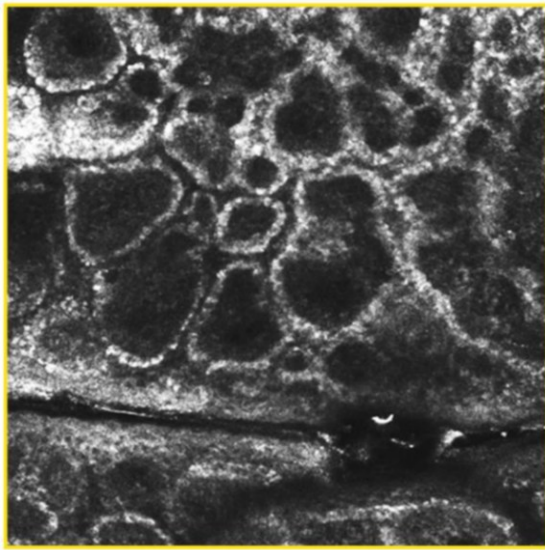


Figura 19 e 20: papille edged e non-edged (58)

Infine, si va a valutare il derma superficiale, nel quale è molto importante analizzare i nidi dermici, ovvero aggregati di melanociti che si classificano in tre gruppi:

- Dense clusters: aggregati cellulari compatti, rotondeggianti e regolari. Sono fondamentalmente cellule omogenee strettamente addossate. Corrisponde al pattern più frequente nei nevi benigni, più raramente presente anche in alcuni melanomi.
- Sparse cell clusters: strutture iporiflettenti con bordi ben definiti, contengono cellule sparse e disorganizzate; vi è una marcata perdita della coesione cellulare. Frequenti nei melanomi e raramente anche nei nevi di Spitz.

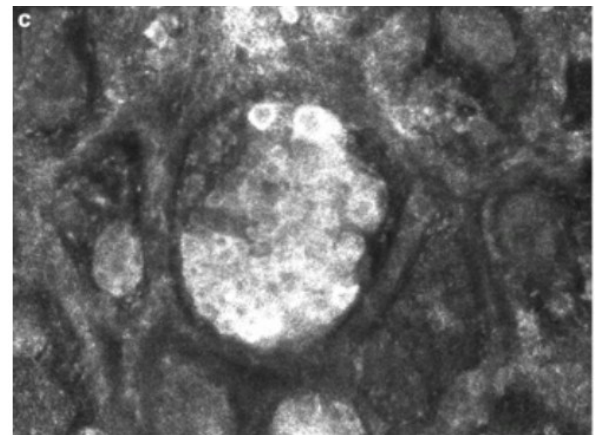


Figura 21: dense clusters in un melanoma (63)

Spesso, nella letteratura successiva, *dense e sparse clusters* sono stati associati per avere più semplicità nei criteri e migliore concordanza, visto che la distinzione non era mai così netta tra i due tipi.

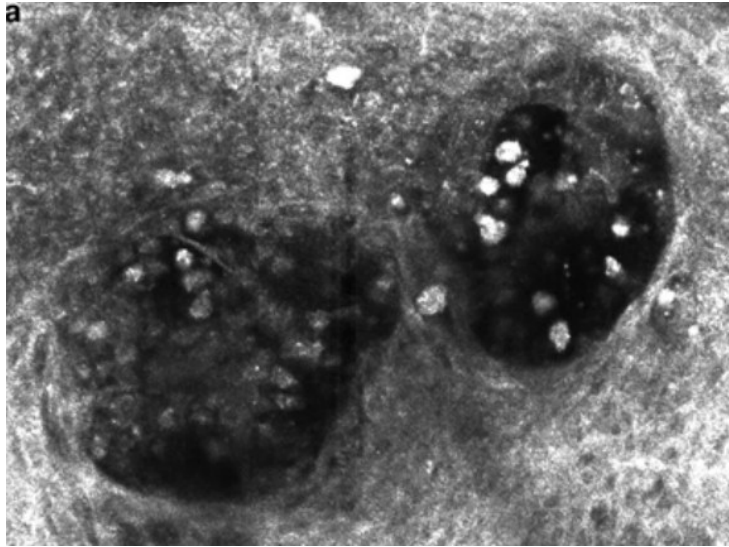


Figura 22: sparse cell cluster in un melanoma(63)

- Cerebriform clusters: cluster multilobati, con aspetto cerebriforme. Le cellule di questi aggregati sono a bassa riflettività, con citoplasma granulare senza nuclei evidenti e con bordi poco definiti. Pattern osservato solo nei melanomi, soprattutto quelli invasivi, infatti è il più suggestivo di malattia. (63)

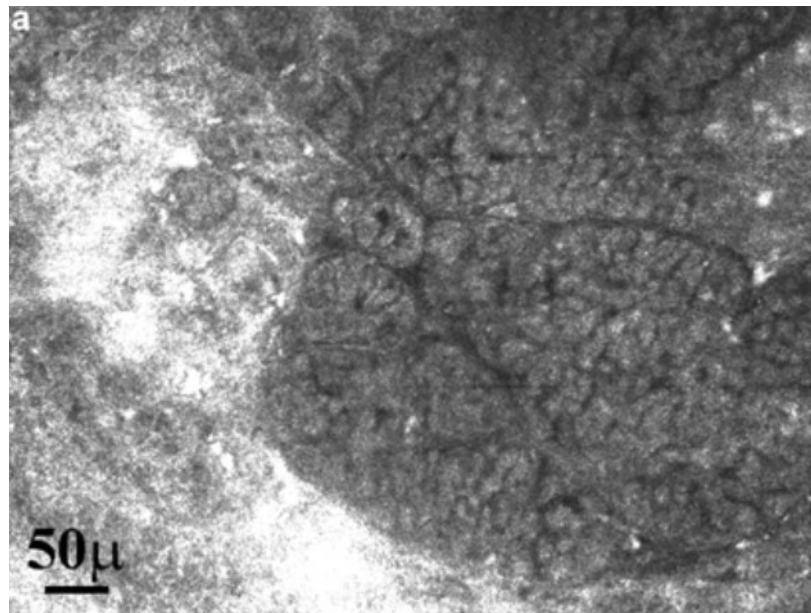


Figura 23: cerebriform clusters(63)

Quando nel derma superficiale è presente infiammazione, la microscopia confocale consente di vedere sia segni diretti di essa, quali cellule puntiformi molto rifrangenti, che corrispondono a linfociti e macrofagi; aggregati cellulari perivascolari e un netto aumento della cellularità nel derma più superficiale che normalmente è povero di cellule. Oltre ai segni diretti si possono osservare anche quelli indiretti: come infiammazione vascolare (con capillari dilatati, flusso sanguigno aumentato e leucociti attorno ai vasi); alterazione del collagene dermico che perde il suo normale pattern reticolato; edema dermico (riduzione del contrasto tra strutture e separazione delle fibre).

L'infiltrato infiammatorio non è sempre specifico solo di melanoma, ma può essere associato anche a dermatiti, rosacea, reazioni a farmaci, ecc. (64)

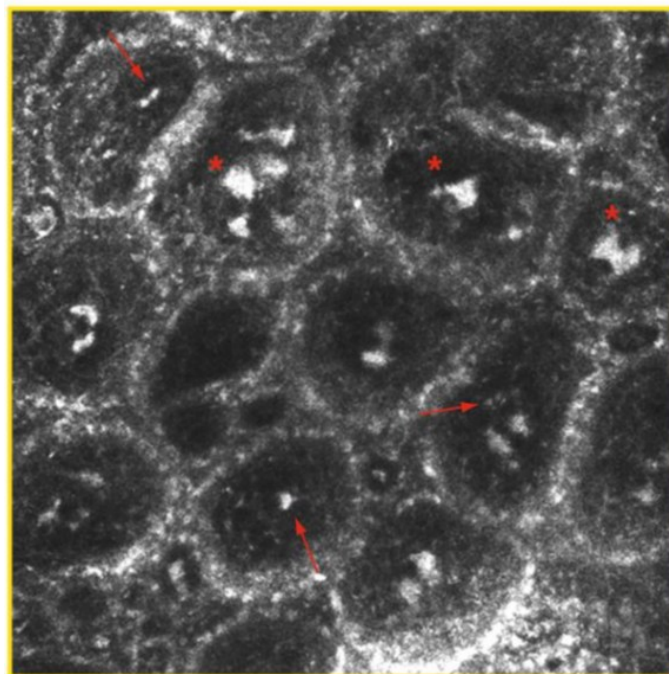


Figura 24: infiltrato infiammatorio(58)

In conclusione, la RCM è un esame estremamente utile, che migliora l'accuratezza diagnostica, aumentando sensibilità e soprattutto specificità; fa come da ponte tra dermatoscopia e biopsia, consentendo di ridurre tante asportazioni inutili, rimanendo comunque una tecnica non invasiva. Anche la microscopia confocale ha, però, i suoi limiti, tra i quali vi è sicuramente l'esperienza dell'operatore: interpretare le immagini richiede un training specifico ed un'esperienza elevata, non tutti lo fanno allo stesso modo.

Inoltre, seppure sia un esame molto accurato, non sostituisce l'istologia, anche perché è stato notato che vi possono essere alcune differenze nei diversi studi. Come limitazioni tecniche non vanno dimenticate la profondità limitata, la difficoltà nel visualizzare lesioni molto pigmentate e la qualità delle immagini non sempre ottimale. Infine, un aspetto non meno rilevante, riguarda la disponibilità più limitata rispetto ad altri strumenti e i costi molto elevati. (65)

1.7.4 Istopatologia

Per fare diagnosi definitiva di melanoma è necessaria la biopsia. Quest'ultima deve essere escissionale completa, quando possibile, asportando l'intera lesione, con un piccolo margine di cute sana, fino alla parte più superficiale del sottocute. Ovviamente, una biopsia incompleta può alterare l'interpretazione istologica, non consentendo di valutare nel modo corretto tutte le caratteristiche necessarie per fare diagnosi. Infatti, per poter dire con certezza che si tratta di melanoma non ci si deve basare su un singolo reperto, ma sull'integrazione di diversi di essi, quali:

- Asimmetria della lesione;
- Margini scarsamente circoscritti;
- Proliferazione giunzionale irregolare;
- Diffusione pagetoide;
- Atipia citologica: melanociti aumentati di volume, con pleiomorfismo nucleare e nucleoli prominenti;
- Mancata maturazione in profondità: nei nevi benigni le cellule diventano più piccole e meno attive scendendo verso il derma profondo, ciò non accade nel melanoma;
- Mitosi dermiche: forte sospetto di malignità;
- Risposta stromale: potrebbero essere presenti infiltrato infiammatorio, fibrosi dermica, fino a fenomeni regressivi. (66)

Inoltre, istologicamente, i melanomi possono essere suddivisi in NON INVASIVI (IN SITU) e INVASIVI. Nei primi la neoplasia rimane confinata nell'epidermide, senza invasione della membrana basale e del derma sottostante. Tra gli esempi di questa forma rientrano il melanoma in situ superficiale e la lentigo maligna. Come dice il nome stesso, invece, nel melanoma invasivo le cellule melanocitarie superano la membrana basale e

infiltrano il derma, acquisendo potenziale metastatico (67). Esempi di quest'altra forma sono: melanoma a diffusione superficiale; melanoma nodulare; lentigo maligna melanoma; melanoma acrale lentiginoso(68).

Nei casi più complessi anche la sola istologia può non essere sufficiente, proprio per questo entrano in gioco le tecniche di diagnostica molecolare e citogenetiche. La FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*), per esempio, è una tecnica che consente di rilevare alterazioni cromosomiche ricorrenti nelle neoplasie melanocitarie, anche nei campioni di piccole dimensioni. Però, ha come limite la possibilità di analizzare solo regioni genomiche selezionate e non l'intero assetto genetico della lesione.

Insieme alla FISH, la CGH (*comparative genomic hybridization*) consente un'analisi più completa del genoma tumorale, evidenziando alterazioni cromosomiche diffuse tipiche del melanoma, sebbene richieda più materiale e non sia sempre eseguibile.

Infine, l'analisi molecolare consente di individuare mutazioni nei geni **BRAF**, **NRAS** e **KIT**, utili nella caratterizzazione biologica del tumore, ma anche rilevanti dal punto di vista terapeutico(69).

1.8 FATTORI PROGNSOTICI

Nell'analisi delle lesioni melanocitarie ci sono diversi elementi che fungono da fattore prognostico, tra i quali:

- ✓ Spessore di Breslow: uno dei fattori principali, determinante più importante per la sopravvivenza. Misura della profondità verticale del melanoma in mm, correlato direttamente al rischio di metastasi e parametro base per la stadiazione T.
- ✓ Ulcerazione: indice di un comportamento biologico più aggressivo, infatti peggiora la sopravvivenza anche a parità di spessore di Bresow; inoltre, modifica la classificazione del T. (68)
- ✓ Istotipo: ad oggi non è considerato un fattore prognostico indipendente. Si fa riferimento alle categorie diagnostiche della Classificazione dei Tumori della Cute dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO/IARC) (70).

- ✓ Livello di Clark: nell'attuale sistema di stadiazione AJCC non è più presente in quanto rimpiazzato dallo spessore di Breslow. È una valutazione soggettiva, non una misurazione in millimetri. In alcuni studi sul melanoma, con spessore di Breslow < 1 mm, ha dimostrato valore prognostico, va comunque riportato nel referto istopatologico. (71)
- ✓ Fase di crescita: condiziona la prognosi in maniera determinante, può essere radiale o verticale, in quest'ultima il melanoma acquisisce la capacità di metastatizzare. Questa informazione va inserita nel referto istopatologico, tranne nel caso di melanoma nodulare che ha, per definizione, un pattern di crescita in senso verticale(71).
- ✓ Indice mitotico: più la conta mitotica è alta più il melanoma è probabile che metastatizzi. Nel 2010, la American Joint Committee on Cancer ha raccomandato l'uso della conta mitotica come fattore determinante per la definizione del melanoma di stadio I(71).
- ✓ Linfociti infiltranti il tumore (TILs): sembra associata a prognosi favorevole, anche se non tutti gli studi precedenti hanno evidenziato un significato prognostico. È consigliato l'inserimento del parametro TILs, specificando "*TILs assenti*" se non sono presenti linfociti o, se presenti, non sono in contatto con le cellule neoplastiche; "*TILs non brisk*" se sono presenti aree isolate, multifocali o segmentali che contengono infiltrati linfocitari intratumorali; "*TILs brisk*" se l'infiltrato linfocitario è presente a livello del fronte di crescita del tumore(71).
- ✓ Regressione: la sostituzione parziale o completa delle cellule tumorali associata ad infiltrato infiammatorio e fibrosi dermica. Il suo significato prognostico è ancora ampiamente dibattuto. È stato dimostrato come nei melanomi in fase di crescita radiale la presenza di fenomeni di regressione influenzi negativamente la prognosi in analisi multivariata, ma ciò non è stato confermato in altri studi. In ogni caso è consigliato riportare nel referto l'estensione della regressione(71).
- ✓ Microsatellitosi: presenza di metastasi microscopica cutanea e/o sottocutanea adiacente o in profondità rispetto al melanoma primitivo. Non sembrano esserci differenze significative in termini di prognosi tra i pazienti con microsatellitosi, macrosatellitosi e metastasi in transit. Nella classificazione AJCC, la presenza di

microsatelliti, anche in assenza di linfonodi clinicamente apprezzabili o metastasi in transit, configura uno stadio clinico III(71).

- ✓ Invasione linfovascolare: l'invasione dei vasi linfatici sembra essere correlata con il rischio di ripresa cutanea e lo sviluppo di metastasi in transit. Anche l'invasione linfovascolare determina un impatto considerevole sulla prognosi(71).

1.9 STADIAZIONE

Come per molti altri tipi di tumore, la stadiazione del melanoma si basa sul sistema TNM, descritta

dall'ultima revisione dell'American Joint Committee on Cancer, ottava edizione(71).

Categoria T	Spessore di Breslow[^]	Ulcerazione
T1 ≤1,0 mm		
T1a	a: <0,8 mm	Assente
T1b	b: <0,8 mm	Presente
	0,8-1,0 mm	Assente/presente
T2 >1,0-2,0 mm		
T2a	a: >1,0-2,0 mm	Assente
T2b	b: >1,0-2,0 mm	Presente
T3 >2,0-4,0 mm		
T3a	a: >2,0-4,0 mm	Assente
T3b	b: >2,0-4,0 mm	Presente
T4 >4,0 mm		
T4a	a: >4,0 mm	Assente
T4b	b: >4,0 mm	Presente

Categoria N^{^^}	N. di linfonodi regionali coinvolti	Metastasi in transit, satelliti, e/o microsatellitosi^{^^^}
N1	1 linfonodo coinvolto oppure metastasi in transit, satelliti e/o microsatellitosi in assenza di linfonodi regionali coinvolti	
N1a	a: 1 linfonodo clinicamente occulto (diagnosticato con biopsia del linfonodo sentinella)	a: Assenti
N1b	b: 1 linfonodo dimostrato clinicamente	b: Assenti
N1c	c: Linfonodi regionali non coinvolti	c: Presenti
N2	2-3 linfonodi coinvolti oppure metastasi in transit, satelliti e/o microsatellitosi con 1 linfonodo regionale coinvolto	
N2a	a: 2 o 3 linfonodi clinicamente occulti (diagnosticati con biopsia del linfonodo sentinella)	a: Assenti
N2b	b: 2 o 3 linfonodi, di cui almeno 1 dimostrato clinicamente	b: Assenti
N2c	c: 1 linfonodo clinicamente occulto o diagnosticato clinicamente	c: Presenti
N3	4 o più linfonodi coinvolti oppure metastasi in transit, satelliti e/o microsatellitosi con 2 o più linfonodi regionali coinvolti oppure qualsiasi numero di pacchetti linfonodali (linfonodi confluenti) con o senza metastasi in transit, satelliti e/o microsatellitosi	
N3a	a: 4 o più linfonodi clinicamente occulti (diagnosticati con biopsia del linfonodo sentinella)	a: Assenti
N3b	b: 4 o più linfonodi, di cui almeno 1 dimostrato clinicamente oppure presenza di pacchetti linfonodali (linfonodi confluenti), in qualsiasi numero	b: Assenti
N3c	c: 2 o più linfonodi clinicamente occulti o diagnosticati clinicamente e/o presenza di pacchetti linfonodali (linfonodi confluenti), in qualsiasi numero	c: Presenti

<i>Sede</i>	<i>Sede anatomica</i>	<i>LDH</i>
M1	Evidenza di metastasi a distanza	
M1a	a: Metastasi a distanza alla cute, tessuti molli compreso il muscolo e/o linfonodi non regionali	Non valutato o non specificato
M1a(0)		Non elevato
M1a(1)		Elevato
M1b	b: Metastasi a distanza al polmone con o senza sedi di malattia M1a	Non valutato o non specificato
M1b(0)		Non elevato
M1b(1)		Elevato
M1c	c: Metastasi a distanza a sedi viscerali diverse dal SNC con o senza sedi di malattia M1a oppure M1b	Non valutato o non specificato
M1c(0)		Non elevato
M1c(1)		Elevato
M1d	d: Metastasi a distanza al SNC con o senza sedi di malattia M1a, M1b oppure M1c	Non valutato o non specificato
M1d(0)		Non elevato
M1d(1)		Elevato

Figura 25: classificazione TNM(71)

T	N	M	cTNM
Tis	N0	M0	0
T1a	N0	M0	IA
T1b	N0	M0	IB
T2a	N0	M0	IB
T2b	N0	M0	IIA
T3a	N0	M0	IIA
T3b	N0	M0	IIB
T4a	N0	M0	IIB
T4b	N0	M0	IIC
Qualsiasi T, Tis	≥N1	M0	III
Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1	IV

Figura 26: classificazione cTNM(71)

T	N	M	pTNM
Tis	N0	M0	0
T1a	N0	M0	IA
T1b	N0	M0	IA
T2a	N0	M0	IB
T2b	N0	M0	IIA
T3a	N0	M0	IIA
T3b	N0	M0	IIB
T4a	N0	M0	IIB
T4b	N0	M0	IIC
T0	N1b, N1c	M0	IIIB
T0	N2b, N2c, N3b o N2c	M0	IIIC
T1a/b-T2a	N1a o N2a	M0	IIIA
T1a/b-T2a	N1b/c o N2b	M0	IIIB
T2b/T3a	N1a-N2b	M0	IIIB
T1a-T3a	N2c o N3a/b/c	M0	IIIC
T3b/T4a	Qualsiasi N $\geq$ N1	M0	IIIC
T4b	N1a-N2c	M0	IIIC
T4b	N3a/b/c	M0	IIID
Qualsiasi T, Tis	Qualsiasi N	M1	IV

Figura 27: classificazione pTNM(71)

1.9.1 Linfonodo sentinella

Il linfonodo sentinella è il primo linfonodo o gruppo di linfonodi che riceve il drenaggio linfatico proveniente dal tumore primitivo. Quando il melanoma rimosso viene diagnosticato con un pT superiore o uguale a 1b, si esegue anche l'asportazione del linfonodo sentinella; se in quest'ultimo sono presenti cellule di melanoma, si procede alla linfadenectomia radicale di tutta la stazione linfonodale.

L'individuazione del linfonodo sentinella si svolge tramite linfoscintigrafia: si fa un'iniezione intradermica in prossimità della lesione melanomatosa di un tracciante radioattivo gamma emittente; in questo modo, per mezzo di una gamma-camera, viene individuato il bacino di drenaggio linfatico, all'interno del quale si trova il linfonodo sentinella. In sala operatoria, per l'asportazione, viene iniettato nuovamente un colorante

vitale, per un miglior riconoscimento del linfonodo; viene, poi, utilizzata una sonda in grado di misurare la radioattività accumulata.

Tutti gli studi hanno dimostrato che la biopsia del linfonodo sentinella è una tecnica altamente sensibile e che l'esame istologico è tale da permettere l'individuazione, non solo di eventuali micrometastasi, ma anche delle cosiddette "cellule tumorali isolate".

La sopravvivenza globale dei pazienti con linfonodo sentinella negativo, inoltre, risulta essere migliore rispetto a quando il linfonodo sentinella è positivo(27).

1.10 TRATTAMENTO

1.10.1 Resezione chirurgica

Nel melanoma cutaneo localizzato, il trattamento principale consiste nell'escissione chirurgica allargata (*wide local excision*). Questa tecnica consente di rimuovere la lesione primaria e l'eventuale tessuto tumorale residuo dopo la biopsia diagnostica. Per fare in modo che l'ampiezza dei margini di sicurezza sia adeguata viene considerato lo spessore del tumore: per il melanoma in situ sono raccomandati margini di 0,5–1 cm, per melanomi con spessore ≤ 1 mm un margine di 1 cm; per quelli compresi tra 1 e 2 mm margini di 1–2 cm; infine, per melanomi superiori a 2 mm margini di 2 cm. L'escissione deve comprendere la cute, il tessuto sottocutaneo e raggiungere il piano della fascia muscolare sottostante, anche se non vi sono evidenze scientifiche che supportino la rimozione della fascia stessa. In caso la chiusura non sia possibile eseguire una normale sutura, si possono utilizzare innesti cutanei o tecniche ricostruttive mediante lembi locali(72).

1.10.2 Chemioterapia

Fino a qualche anno fa, la chemioterapia rappresentava il principale trattamento sistemico per i pazienti affetti da melanoma metastatico. La molecola di riferimento era la Dacarbazina, approvata negli anni Settanta e considerata lo standard terapeutico fino all'introduzione delle nuove strategie biologiche.

La dacarbazina ha dimostrato un'efficacia clinica piuttosto limitata: i tassi di risposta erano generalmente compresi tra il 10% e il 20%, mentre le remissioni complete risultavano rare e spesso di breve durata. Inoltre, dai vari studi fatti non è emerso un miglioramento significativo della sopravvivenza globale.

Per incrementare l'efficacia terapeutica, infatti, sono stati sviluppati diversi schemi di polichemioterapia: associazione di Dacarbazina con altri farmaci citotossici. Anche queste combinazioni, però, non sono riuscite a dimostrare un vantaggio sostanziale in termini di sopravvivenza, nonostante ci sia stato un incremento della risposta tumorale.

A seguito dell'introduzione di nuove e più moderne terapie, il ruolo della chemioterapia nel melanoma è stato notevolmente ridimensionato: viene considerata solo in situazioni selezionate, in cui non si può fare altro o le precedenti strategie hanno fallito(73).

1.10.3 Immunoterapia e Terapie a target molecolare

Le nuove strategie terapeutiche che hanno modificato l'uso della chemioterapia sono principalmente l'immunoterapia e le terapie a target molecolare.

Alla base dell'immunoterapia vi è la capacità di modulare il sistema immunitario per potenziare il riconoscimento e l'eliminazione delle cellule tumorali. Inizialmente, erano utilizzate molecole come l'Interleuchina-2 e l'Interferone alfa, con, però, una certa tossicità e benefici clinici limitati.

Un miglioramento significativo della sopravvivenza dei pazienti con melanoma metastatico è stato ottenuto a seguito dell'introduzione dell'anticorpo anti-CTLA-4 Ipilimumab. Esso fa parte dei cosiddetti checkpoint immunitari, molecole regolatorie che normalmente inibiscono l'attivazione dei linfociti T. Successivamente, gli anticorpi anti-PD-1 (es: Nivolumab e Pembrolizumab) hanno ulteriormente migliorato i tassi di risposta, con anche una durata maggiore delle remissioni e una minore tossicità.

Parallelamente all'immunoterapia, sono state sviluppate terapie a bersaglio molecolare, basate sulla caratterizzazione genetica del tumore.

L'identificazione delle alterazioni più frequenti nel melanoma ha permesso lo sviluppo di inibitori selettivi di BRAF (es: Vemurafenib e Dabrafenib). Tuttavia, questi, usati in monoterapia erano più frequentemente associati a resistenze acquisite. Per ovviare a questo problema e bloccare più selettivamente la via MAPK, è stata introdotta la combinazione di inibitori di BRAF con inibitori di MEK (come Trametinib e Cobimetinib). A differenza dell'immunoterapia, però, le risposte tendono meno frequentemente a essere durature(73).

1.11 FOLLOW-UP

Dopo l'intervento chirurgico di asportazione del melanoma, i pazienti, di solito, vengono inseriti in un programma di follow-up clinico strutturato; per identificare precocemente recidive locali, eventuali metastasi e nuovi melanomi primitivi

Il follow-up prevede, in base allo stadio della malattia controlli clinici periodici ed esami strumentali mirati. Generalmente, i pazienti possono eseguire, oltre ai classici controlli dermatologici, esami di imaging più approfonditi e indagini delle stazioni linfonodali regionali. Nei casi a rischio più elevato si possono eseguire anche esami di secondo livello come la TC total body con mezzo di contrasto o la PET total body. In situazioni selezionate può essere indicata anche la scintigrafia, per eventuali metastasi ossee. Visti i casi di recidiva osservati in letteratura, negli stadi più avanzati il paziente dovrebbe rimanere in follow-up per minimo 10 anni(27).

2. SCOPO DELLA TESI

Nella diagnosi del melanoma, le metodiche diagnostiche non invasive, come l'RCM, hanno assunto sempre più rilevanza: consentono un'analisi in vivo delle caratteristiche morfologiche delle lesioni e forniscono informazioni utili sia per la diagnosi sia per la caratterizzazione della biologia tumorale.

Tra i diversi pattern dell'RCM, i nidi cerebriformi rappresentano un reperto non ancora caratterizzato completamente. Nonostante siano stati descritti in associazione ad alcune tipologie invasive di melanoma (come, per esempio, il melanoma nodulare), il significato biologico e le possibili correlazioni con altri parametri non sono ancora del tutto chiari. Approfondire questi aspetti potrebbe essere utile per migliorare la comprensione della biologia della neoplasia.

Sulla base di queste considerazioni, il presente studio si propone di analizzare una popolazione selezionata di melanomi caratterizzati dalla presenza di nidi a morfologia cerebriforme in RCM. In particolare, l'obiettivo principale consiste nella valutazione delle caratteristiche dermoscopiche, confocali e istologiche di tali lesioni, andando a valutare possibili correlazioni tra il pattern osservato in RCM e i reperti dermatoscopici identificati mediante la *Revised 7-point checklist*(56). Verranno valutati anche i principali parametri istopatologici dei melanomi della coorte studiata, per consentire l'analisi di eventuali peculiarità associate alla presenza dei nidi cerebriformi.

Un ulteriore obiettivo è rappresentato dalla ricerca dell'eventuale associazione tra questo specifico pattern confocale e la positività del linfonodo sentinella (SLN). Visto il ruolo prognostico che quest'ultimo possiede per una corretta stadiazione della malattia, l'identificazione di determinate caratteristiche correlate al coinvolgimento linfonodale potrebbe essere utile per caratterizzare meglio il rischio biologico della neoplasia.

3. MATERIALI E METODI

3.1 DATABASE

È stata condotta una selezione retrospettiva di casi di melanoma dal database della clinica dermatologica dell'Università di Modena e Reggio Emilia, che avessero nidi a morfologia cerebriforme in RCM e per i quali fosse disponibile un set completo di immagini in dermatoscopia e in RCM nel periodo 2016-2023.

Il database è stato creato con i dati a disposizione, inserendo per ogni paziente:

- ▲ Codice identificativo
- ▲ Sesso
- ▲ Area del corpo in cui è stato riscontrato il melanoma
- ▲ pT

Per ciascun caso, poi, sono state valutate le immagini delle lesioni raccolte durante le visite tramite utilizzo del dermatoscopio. Per ciascuna di esse è stata valutata la presenza dei parametri della *Revised 7-point checklist*(56); sono stati riportati i rispettivi punteggi e il totale risultante:

- ▲ reticolo pigmentario atipico
- ▲ velo blu-biancastro
- ▲ pattern vascolare atipico
- ▲ streaks irregolari
- ▲ pigmentazione irregolare
- ▲ globuli irregolari
- ▲ strutture di regressione

Sempre per ciascun caso, sono state valutate le immagini in RCM, analizzando epidermide, giunzione dermo-epidermica e derma superficiale.

Per quanto riguarda l'epidermide:

- ▲ assenza o meno di cellule pagetoidi
- ▲ tipo di cellule atipiche presenti (Tondeggianti; Dendritiche; Pleomorfe)

- ▲ percentuale di cellule atipiche nel campo preso in analisi (<25%; 25-50%; >50%)
- ▲ diffusione (focale; diffusa)
- ▲ pattern dei cheratinociti (*Honeycombed; Cobblestone; Disarranged*)

Per quanto riguarda la DEJ:

- ▲ pattern architetturale (*Meshwork; Ringed; Clod; Disarranged*)
- ▲ presenza o meno di cellule atipiche
- ▲ diffusione (focale; diffusa)
- ▲ percentuale di cellule atipiche nel campo preso in analisi (<25%; 25-50%; >50%)
- ▲ struttura delle papille (*non edged; edged*)

Per quanto riguarda il derma superficiale:

- ▲ nidi dermici (assenti; presenti, regolari; presenti, irregolari)
- ▲ presenza o meno di nidi cerebriformi
- ▲ eventuale infiammazione

Per ciascun paziente è stato riportato anche il referto istologico con:

- ▲ spessore di Breslow
- ▲ eventuale ulcerazione
- ▲ tipo di cellule presenti
- ▲ il sottotipo istologico
- ▲ fase di crescita (orizzontale o verticale)
- ▲ presenza o assenza di infiltrato linfocitario
- ▲ numero di mitosi
- ▲ insorgenza se nevo preesistente o ex novo
- ▲ presenza o meno di regressione
- ▲ livello di Clark.

Inoltre, per ciascun paziente, è stato riportato il referto della ricerca del linfonodo sentinella per verificarne la positività o meno; e anche la storia clinica del paziente stesso per valutare se avessero avuto eventuali metastasi o se fossero deceduti a causa della neoplasia.

3.2 ANALISI STATISTICA

Per l'analisi dei risultati le variabili continue sono state descritte come media $\pm$ deviazione standard (DS) e range (min–max), mentre le variabili categoriali sono state riportate come frequenze e percentuali (n, %).

Le caratteristiche dermoscopiche sono state valutate secondo la Seven-Point Checklist(56), sia come criteri individuali sia come punteggio totale, riassunti come media $\pm$ DS e categorizzati utilizzando un cut-off clinicamente rilevante (≤ 3 vs ≥ 4).

Le variabili istopatologiche e di microscopia confocale a riflettanza (RCM) sono state analizzate mediante statistiche descrittive.

Gli odds ratio (OR) con intervalli di confidenza (IC) al 95% sono stati calcolati a scopo esplorativo. Quando appropriato, è stata applicata una correzione di continuità (Haldane–Anscombe). Un valore di p bilaterale $<0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

3.3 DERMATOSCOPIO

L'acquisizione delle immagini dermoscopiche è stata eseguita attraverso una fotocamera digitale dotata di obiettivo per dermatoscopia a 6 elementi con luce polarizzata (per una dermoscopia a secco) e non polarizzata (dermoscopia in immersione) che consente di ottenere un campo visivo differente a seconda della modalità impostata.

3.4 RCM VIVASCOPE 1500

Per ottenere quasi tutte le immagini analizzate è stato utilizzato il sistema di RCM in vivo VIVASCOPE 1500; esso permette di visualizzare, in maniera non invasiva, in tempo reale e ad alta risoluzione una lesione cutanea ed è in grado di ottenere immagini orizzontali della pelle a risoluzione cellulare (0.5 -1,0 mm nella dimensione laterale e 4-5 mm in quelli assiali).(74)

Il VivaScope® 1500 fornisce immagini di base con un campo visivo orizzontale di $500 \times 500 \mu\text{m}$ (x, y) a una profondità di imaging preselezionata (z).

Le immagini possono essere organizzate in modo differente:

- ❖ uno “*Stack*” è una sequenza di immagini di base catturate nella stessa posizione orizzontale (x, y) ma a diverse profondità (z).
- ❖ Un “*Block*” (“Mosaico”) è un’immagine ad alta risoluzione composta da numerose immagini di base (fino a 256) acquisite sequenzialmente nel piano orizzontale da un sistema automatico e assemblate tramite un software dedicato.
- ❖ Un “*Cube*” corrisponde a una sequenza di mosaici acquisiti a profondità di imaging preselezionate tramite un sistema automatico.

Con il VivaScope 1500 si possono anche acquisire brevi video per documentare l'imaging in tempo reale (ad esempio, il flusso sanguigno attraverso i vasi).(58)

3.5 RCM VIVASCOPE 3000

Per ottenere alcune delle immagini analizzate è stato utilizzato il VivaScope 3000, un microscopio portatile progettato per accedere ad aree cutanee difficili da raggiungere. La risoluzione del VivaScope 3000 è la stessa del VivaScope 1500, ma nel primo le singole immagini sono di $1000 \times 1000 \mu\text{m}$ e la profondità può arrivare fino a $200 \mu\text{m}$ a seconda del tipo di tessuto. Il VivaScope 1500 e il 3000 possono essere utilizzati come unità autonome o insieme.

4. RISULTATI

Nello studio sono stati inclusi 21 pazienti con melanoma a nido cerebriforme.

Come si può osservare riassunto nella tabella 1, analizzando le caratteristiche clinico-patologiche i pazienti sono prevalentemente di sesso maschile (61,9%) e la sede anatomica più frequente è il tronco (52,4%), seguita dagli arti superiori (28,6%). Lo spessore medio di Breslow è pari a $2,07 \pm 1,20$ mm e l'ulcerazione è presente nel 42,9% dei casi.

La maggior parte dei melanomi mostra crescita verticale (92,9%) e livello di Clark IV (66,7%). Un indice mitotico $\geq 2/\text{mm}^2$ è stato osservato nel 70,0% dei pazienti. I linfociti infiltranti il tumore (TILs) sono presenti nell'84,2% dei casi.

Lo stato del linfonodo sentinella (SLN) risulta negativo nel 76,2% dei pazienti e positivo nel 14,3%, mentre nel 9,5% dei soggetti (2 casi) non è stato eseguito: in uno per comorbidità e nell'altro per rifiuto del paziente stesso. Metastasi sono state osservate nel 15,0% dei pazienti e il 90,0% era vivo al follow-up di almeno 3 anni; di un paziente non è noto il decorso del follow-up.

Osservando sempre la tabella 1, i criteri dermoscopici della Seven-Point checklist(56) osservati più frequentemente sono il velo blu-biancastro (76,2%) e il pattern vascolare atipico (76,2%). Pigmentazione irregolare e strutture di regressione sono presenti nel 42,9% dei casi, seguite da punti/globuli irregolari (38,1%), rete pigmentaria atipica e strie irregolari (entrambe 23,8%). Il punteggio medio della Seven-Point Checklist(56) è $3,5 \pm 1,7$.

Per quanto riguarda la microscopia confocale a riflettanza, nell'epidermide sono presenti cellule pagetoidi nel 95,2% dei casi. Esse si osservano in una percentuale maggiore del 50% della lesione nel 52,4% dei melanomi in esame, con una distribuzione prevalentemente diffusa (76,2%). Sempre in epidermide, cheratinociti atipici sono stati osservati nel 90,5% dei casi.

Analizzando la DEJ: i melanomi mostrano un pattern giunzionale disordinato (*disarranged*); mentre le papille sono *non-edged* nel 95,2%.

L' infiltrato infiammatorio dermico è presente nell'85,7% delle lesioni (tabella 1).

Tabella 1. Caratteristiche clinico-patologiche, dermoscopiche e di microscopia laser confocale

Caratteristiche clinico-patologiche		n (%)
Sesso	Maschio	13 (61.9)
	Femmina	8 (38.1)
Sede anatomica	Tronco	11 (52.4)
	Arti superiori	6 (28.6)
	Arti inferiori	3 (14.3)
	Testa/collo	1 (4.8)
Breslow (mm)		2.07 ± 1.20 (0.8–4.4)
Ulcerazione (presente)		9 (42.9)
pT	1b	2 (9.5%)
	2a	8 (38.1%)
	2b	3 (14.3%)
	3a	1 (4.8%)
	3b	6 (28.6%)
	4a	1 (4.8%)
LNS (linfonodo sentinella)	Negativo	16 (76.2%)
	Positivo	3 (14.3%)

	Non eseguito	2 (9.5%)
Tipo di cellule	Epitelioide	15 (71.4)
	Epitelioide+nevoide	3 (14.3)
	Nevoide	1 (4.8)
	Non specificato	2 (9.5)
Tipo istologico (n=18)	Nodulare	5 (27.8)
	Diffusione superficiale	1 (5.6)
	Non specificato	12 (66.7)
Crescita (n=14)	Verticale	13 (92.9)
	Orizzontale	1 (7.1)
TILs (linfociti infiltranti tumore) (n=19)	Assenti	3 (15.8)
	Presenti	16 (84.2)
Mitosi (n=20)	≥ 2	14 (70.0)
Nevo preesistente (n=19)	Assente	12 (63.2)
	Presente	7 (36.8)
Regressione >75% (n=19)	Assente	17 (89.5)
	Presente	2 (10.5)
Livello di Clark (n=18)	III	4 (22.2)

	IV	12 (66.7)
Outcome Metastasi (n=20)	Assente	17 (85.0)
	Presente	3 (15.0)
Stato vitale (n=20)	Vivo	18 (90.0)
	Deceduto	2 (10.0)
Invasione vascolare/perineurale	Assente	18 (100)
Dermatoscopia (Seven Point Checklist)		
Reticolo pigmentato atipico		5 (23.8)
Velo blu-biancastro		16 (76.2)
Pattern vascolare atipico		16 (76.2)
Strie irregolari		5 (23.8)
Colorazione irregolare		9 (42.9)
Punti/globuli irregolari		8 (38.1)
Strutture di regressione		9 (42.9)
Punteggio 7-Point Checklist		3.5 ± 1.7 (1–7)
7- Point Checklist	≤3	13 (61.9)
	≥4	8 (38.1)
7- Point Checklist	1	3 (14.3)
	2	5 (23.8)
	3	5 (23.8)
	4	3 (14.3)

	5	3 (14.3)
	6	1 (4.8)
	7	1 (4.8)
Microscopia confocale		
Epidermide		
Cellule pagetoidi		20 (95.2)
Tipo di cellule atipiche	Assenti	1 (4.8)
	Tondeggianti, Dendritiche, Pleomorfe	8 (38.1)
	Tondeggianti, Dendritiche	4 (19.1)
	Tondeggianti, Pleomorfe	1 (4.8)
	Dendritiche	6 (28.6)
	Dendritiche, Pleomorfe	1 (4.8)
Cellule atipiche (%)	Assenti	1 (4.8)
	>25%	3 (14.3)
	25-50%	6 (28.6)
	>50%	11 (52.4)
Diffusione cellule atipiche	Assente	1 (4.8)
	Focale	4 (19.0)

	Diffusa	16 (76.2)
Cheratinociti	Honeycombed	2 (9.5)
	Disarranged	19 (90.5)
Gunzione dermo-epidermica (DEJ)		
Pattern DEJ	Disarranged	21 (100)
Cellule atipiche	Tondeggianti, Dendritiche	8 (38.1)
	Dendritiche	13 (61.9)
Diffusione cellule atipiche	Focale	2 (9.5)
	Diffusa	19 (90.5)
Cellule atipiche (%)	>25%	2 (9.5)
	25-50%	1 (4.8)
	>50%	18 (85.7)
Papille	Non-edged	20 (95.2)
	Non-edged, Edged	1 (4.8)
Derma superficiale		
Nidi dermici	Presenti, regolari	3 (14.3)
	Presenti, irregolari	18 (85.7)
Nidi dermici cerebriformi	Presenti	21 (100)
Infiammazione	Assente	3 (14.3)
	Presente	18 (85.7)

L'analisi univariata non ha evidenziato associazioni statisticamente significative tra variabili clinicopatologiche, dermoscopiche o confocali e la presenza di metastasi (osservabile in Tabella 2 sotto).

In particolare, fattori prognostici consolidati quali spessore di Breslow >2 mm, ulcerazione, stadio pT ≥ 3 e alto indice mitotico non hanno raggiunto la significatività statistica (tutti $p > 0,05$). Analogamente, nessuno dei criteri dermoscopiche inclusi nella Seven-Point Checklist(56) è risultato significativamente associato a malattia metastatica.

Anche per quanto riguarda le caratteristiche RCM, non sono state riscontrate associazioni significative tra metastasi e tipo o distribuzione dell'atipia cellulare o altri parametri confocali valutati.

Tabella 2. Associazione tra caratteristiche clinico-patologiche, dermoscopiche, RCM e metastasi.

Variabile	Metastasi NO (n=17, 85%)	Metastasi SÌ (n=3, 15%)	p- value*
Sesso (M)	11 (64.7)	2 (66.7)	1.000
Breslow >2 mm	7 (41.2)	2 (66.7)	0.566
Ulcerazione (presente)	7 (41.2)	1 (33.3)	1.000
pT ≥ 3	5 (29.4)	2 (66.7)	0.270
LNS positivo (linfonodo sentinella) (n=19)	2 (12.5)	1 (33.3)	0.422

Mitosi >2	4 (23.5)	2 (66.7)	0.202
TILs presenti (linfociti infiltranti tumore) (n=18)	12 (80.0)	3 (100)	1.000
Dermatoscopia (Seven-Point Checklist)			
Reticolo pigmentato atipico	4 (23.5)	1 (33.3)	1.000
Velo blu-biancastro	12 (70.6)	3 (100)	0.539
Pattern vascolare atipico	13 (76.5)	2 (66.7)	1.000
Strie irregolari	4 (23.5)	1 (33.3)	1.000
Colorazione irregolare	8 (47.1)	1 (33.3)	1.000
Punti/globuli irregolari	7 (41.2)	1 (33.3)	1.000
Strutture di regressione	9 (52.9)	0 (0.0)	0.218
Punteggio 7-Point Checklist	3.35 ± 1.84 (1-7)	3.0 ± 0.0 (3–3)	0.748
7-Point Checklist			

≤3	9 (52.9)	3 (100)	0.242
≥4	8 (47.1)	0 (0.0)	
Microscopia confocale			
Epidermide			
Cellule pagetoidi	16 (94.1)	3 (100)	1.000
Tipo di cellule atipiche			
Assenti	1 (5.9)	0 (0.0)	
Tondeggianti, Dendritiche, Pleomorfe	5 (29.4)	2 (66.7)	
Tondeggianti, Dendritiche	4 (23.5)	0 (0.0)	
Tondeggianti, Pleomorfe	0	1 (33.3)	
Dendritiche	6 (35.3)	0 (0.0)	
Dendritiche, pleomorfe	1 (5.9)	0 (0.0)	0.177
Cellule atipiche (%)			
Assenti	1 (5.9)	0 (0.0)	
>25%	3 (17.6)	0 (0.0)	
25-50%	4 (23.5)	1 (33.3)	
>50%	9 (52.9)	2 (66.7)	1.000
Diffusione cellule atipiche			

Assente	1 (5.9)	0 (0.0)	
Focale	4 (23.5)	0 (0.0)	
Diffusa	12 (70.6)	3 (100)	1.000
Cheratinociti (disarranged)	15 (88.2)	3 (100)	1.000
Giunzione dermo-epidermica (DEJ)			
Pattern DEJ (disarranged)	17 (100)	3 (100)	—
Cellule atipiche			
Tondeggianti, Dendritiche	7 (41.2)	0 (0.0)	
Dendritiche	10 (58.8)	3 (100)	0.521
Diffusione cellule atipiche			
Focale	2 (11.8)	0 (0.0)	
Diffusa	15 (88.2)	3 (100)	1.000
Cellule atipiche (%)			
>25%	2 (11.8)	0 (0.0)	
25-50%	1 (5.9)	0 (0.0)	
>50%	14 (82.4)	3 (100)	1.000
Papille (non-edged)	16 (94.1)	3 (100)	1.000
Derma superficiale			

Nidi dermici (presenti, irregolari)	14 (82.4)	3 (100)	1.000
Nidi dermici cerebriformi	17 (100)	3 (100)	—
Infiammazione (presente)	14 (82.4)	3 (100)	1.000

Tabella 3. Associazione tra caratteristiche clinico-patologiche, dermoscopiche, RCM e stato del linfonodo sentinella

Variabile	LNS negativo (n=16, 84.2%)	LNS positivo (n=3, 15.8%)	p- value*
Sesso (M)	11 (68.8)	1 (33.3)	0.523
Breslow >2 mm	6 (37.5)	2 (66.7)	0.546
Ulcerazione (presente)	5 (31.2)	2 (66.7)	0.523
pT ≥3	4 (25.0)	2 (66.7)	0.222
Metastasi	2 (12.5)	1 (33.3)	0.422
Mitosi >2	3 (18.8)	2 (66.7)	0.155
TILs presenti (linfociti infiltranti)	13 (81.3)	2 (100)	1.000

tumore) (n=18)			
Dermatoscopia (Seven-Point Checklist)			
Reticolo pigmentato atipico	4 (25.0)	1 (33.3)	1.000
Velo blu-biancastro	12 (75.0)	2 (66.7)	1.000
Pattern vascolare atipico	12 (75.0)	2 (66.7)	1.000
Strie irregolari	5 (31.2)	0 (0.0)	0.530
Colorazione irregolare	6 (37.5)	2 (66.7)	0.546
Punti/globuli irregolari	6 (37.5)	1 (33.3)	1.000
Strutture di regressione	8 (50.0)	1 (33.3)	1.000
Punteggio 7-point Checklist	3.31 ± 1.74	3.0 ± 2.0	0.783
7-Point Checklist			
≤3	10 (62.5)	2 (66.7)	1.000
≥4	6 (37.5)	1 (33.3)	—

Microscopia confocale			
Epidermide			
Cellule pagetoidi	15 (93.8)	3 (100)	1.000
Tipo di cellule atipiche			
Assenti	1 (6.3)	0 (0.0)	0.039
Tondeggianti, Dendritiche, Pleomorfe	7 (43.8)	0 (0.0)	
Tondeggianti, Dendritiche	3 (18.8)	0 (0.0)	
Tondeggianti, Pleomorfe	0 (0.0)	1 (33.3)	
Dendritiche	5 (31.2)	1 (33.3)	
Dendritiche, Pleomorfe	0 (0.0)	1 (33.3)	
Cellule atipiche (%)			
Assenti	1 (6.3)	0 (0.0)	
>25%	2 (12.5)	0 (0.0)	
25-50%	4 (25.0)	1 (33.3)	
>50%	9 (56.3)	2 (66.7)	1.000
Diffusione cellule atipiche			
Assente	1 (6.3)	0 (0.0)	
Focale	2 (12.5)	1 (33.3)	

Diffusa	13 (81.3)	2 (66.7)	0.530
Cheratinociti (disarranged)	14 (87.5)	3 (100)	1.000
Giunzione dermo-epidermica (DEJ)			
Pattern DEJ (disarranged)	16 (100)	3 (100)	—
Cellule atipiche			
Tondeggianti, dendritiche	6 (37.5)	0 (0.0)	
Dendritiche	10 (62.5)	3 (100)	0.517
Diffusione cellule atipiche			
Focale	1 (6.3)	0 (0.0)	
Diffusa	15 (93.8)	3 (100)	1.000
Cellule atipiche (%)			
>25%	1 (6.3)	0 (0.0)	
25-50%	0 (0.0)	1 (33.3)	
>50%	15 (93.8)	2 (66.7)	0.298
Papille (non-edged)	16 (100)	2 (66.7)	0.158
Derma superficiale			

Nidi dermici (presenti, irregolari)	13 (81.3)	3 (100)	1.000
Nidi dermici cerebriformi	16 (100)	3 (100)	—
Infiammazione (presente)	14 (87.5)	2 (66.7)	0.422

Come visibile in tabella 3 in alto non sono state osservate associazioni rilevanti tra la maggior parte delle caratteristiche clinico-patologiche, dermoscopiche e confocali con lo stato del linfonodo sentinella.

5. DISCUSSIONE

Analizzando i risultati ottenuti, si può notare come tendenzialmente seguano l'andamento degli studi già presenti in letteratura e li confermino.

Innanzitutto, quello che emerge è la crescita verticale dei melanomi a nido cerebriforme analizzati, solitamente indice di maggiore aggressività e rapida evoluzione della malattia. Come confermato da diversi studi, infatti, i melanomi caratterizzati da crescita verticale, tendenzialmente, presentano uno spessore di Breslow maggiore rispetto a lesioni con crescita radiale. È proprio la modalità di crescita (verticale) che consente al melanoma di sviluppare espansione dermica nodulare, con maggiore potenziale metastatico (75).

Un altro aspetto che emerge dai nostri risultati, sempre indice di maggiore aggressività e attività biologica del tumore, è la frequenza con cui le lesioni presentano due caratteristiche della Seven-Point checklist(56): il velo blu-biancastro e il pattern vascolare atipico. Il velo blu biancastro, secondo la letteratura, è associato a pigmento negli strati più profondi del derma: le cellule tumorali sono in fase di crescita verticale e si localizzano in profondità. Esso non rappresenta solo un marker diagnostico, ma, tendenzialmente, correla con alto indice mitotico, propensione all'ulcerazione, crescita verticale profonda e diffusione metastatica(76). Proprio per quanto riguarda il maggior rischio di metastasi, sono state valutate caratteristiche osservabili in dermatoscopia ed è stato confermato il ruolo prognostico negativo. Gli autori hanno osservato come la presenza di un esteso velo blu-biancastro sia associata a un aumentato rischio di metastasi e a una riduzione della sopravvivenza libera da recidiva, evidenziando come tale reperto possa rappresentare non solo un criterio diagnostico, ma anche un indicatore della maggiore aggressività del melanoma(77). Allo stesso modo, il pattern vascolare atipico rappresenta uno dei principali criteri per definire un melanoma maligno: la progressiva crescita e invasione del tumore, infatti, stimola i processi di neoangiogenesi, modificando l'assetto dei vasi intorno alla lesione affinché vi sia più disponibilità metabolica per il tumore stesso, sacrificando, invece, altre strutture(78).

Si può, quindi, affermare che i risultati ottenuti seguono quanto detto da altri studi, confermando l'aggressività di crescita del melanoma a nido cerebriforme.

Per quanto riguarda i risultati provenienti dall'osservazione dell'analisi in microscopia confocale quello che emerge è che i melanomi a nido cerebriforme del nostro studio presentano sempre un pattern architetturale della giunzione dermo-epidermica di tipo *dissaranged*: manifestazione di una disorganizzazione globale del tessuto(63).

Nello studio da noi eseguito non è stata trovata nessuna significatività statistica tra le caratteristiche dei melanomi a nido cerebriforme analizzati e la ricorrenza di metastasi. La letteratura identifica il pattern cerebriforme come un marker diagnostico di malignità e aggressività, che nel nostro studio viene confermato da un punto di vista istologico, ma non sul comportamento della neoplasia (63).

6. CONCLUSIONI

Lo studio ha permesso di caratterizzare in maniera approfondita i melanomi con nidi a morfologia cerebriforme in microscopia confocale, mostrando un quadro relativamente omogeneo sia dal punto di vista dermoscopico che confocale. In particolare, l'osservazione ricorrente del velo blu-biancastro e del pattern vascolare atipico alla dermoscopia, unitamente alla quasi costante presenza di cellule pagetoidi e di un pattern giunzionale disordinato alla RCM, suggerisce l'esistenza di caratteristiche morfologiche che si ripetono e che possono contribuire al riconoscimento di questa peculiare sottopopolazione di melanomi.

Dal punto di vista istopatologico, le lesioni incluse nello studio mostrano prevalentemente caratteristiche associate a una fase di crescita avanzata, come la predominanza della crescita verticale, il frequente riscontro di livello di Clark IV e uno spessore di Breslow medio superiore a 2 mm. Nonostante ciò, la maggior parte dei pazienti presenta un linfonodo sentinella negativo e solo una minoranza sviluppa metastasi a distanza.

Gli aspetti morfologici osservati, in assenza di una marcata correlazione prognostica sottolineano come le caratteristiche diagnostiche e biologiche del melanoma possano non coincidere. Proprio in situazioni come questa, la microscopia laser confocale si conferma uno strumento particolarmente utile per caratterizzare in vivo le lesioni melanocitarie e per identificare specifici pattern architetturali.

Alla luce di ciò, i melanomi con nidi cerebriformi sembrano costituire una categoria morfologicamente riconoscibile, caratterizzata da pattern dermoscopici e confocali ricorrenti. Tuttavia, sulla base dei dati disponibili, tali caratteristiche non sembrano possedere un valore prognostico indipendente né consentire di prevedere il coinvolgimento del linfonodo sentinella.

7. LIMITI DELLO STUDIO

Lo studio è stato condotto tenendo conto del fatto che il campione analizzato è piuttosto ridotto, non consentendo, perciò, di ottenere sempre risultati completi e statisticamente significativi.

Inoltre, lo studio è retrospettivo e monocentrico: sono necessari studi prospettici e multicentrici per validare le caratteristiche esaminate.

Infine, non è stato possibile analizzare i parametri istologici di alcuni melanomi, in quanto non inseriti nel referto istologico.

BIBLIOGRAFIA

1. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol EJD*. 2002;12(4):390–9; quiz 400–1. PubMed PMID: 12095893.
2. Baroni A, Buommino E, De Gregorio V, Ruocco E, Ruocco V, Wolf R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clin Dermatol*. 2012;30(3):257–62. doi:10.1016/j.clindermatol.2011.08.007 PubMed PMID: 22507037.
3. Prost-Squarcioni C, Fraitag S, Heller M, Boehm N. [Functional histology of dermis]. *Ann Dermatol Venereol*. gennaio 2008;135(1 Pt 2):1S5-20. doi:10.1016/S0151-9638(08)70206-0 PubMed PMID: 18442658.
4. Driskell RR, Jahoda CAB, Chuong CM, Watt FM, Horsley V. Defining dermal adipose tissue. *Exp Dermatol*. settembre 2014;23(9):629–31. doi:10.1111/exd.12450 PubMed PMID: 24841073; PubMed Central PMCID: PMC4282701.
5. Rastrelli M, Tropea S, Rossi CR, Alaibac M. Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. In *Vivo*. 2014;28(6):1005–11. PubMed PMID: 25398793.
6. Strashilov S, Yordanov A. Aetiology and Pathogenesis of Cutaneous Melanoma: Current Concepts and Advances. *Int J Mol Sci*. 15 giugno 2021;22(12):6395. doi:10.3390/ijms22126395 PubMed PMID: 34203771; PubMed Central PMCID: PMC8232613.
7. Pampena R, Kyrgidis A, Lallas A, Moscarella E, Argenziano G, Longo C. A meta-analysis of nevus-associated melanoma: Prevalence and practical implications. *J Am Acad Dermatol*. novembre 2017;77(5):938-945.e4. doi:10.1016/j.jaad.2017.06.149 PubMed PMID: 28864306.
8. Ali Z, Yousaf N, Larkin J. Melanoma epidemiology, biology and prognosis. *EJC Suppl EJC Off J EORTC Eur Organ Res Treat Cancer Al*. settembre 2013;11(2):81–91. doi:10.1016/j.ejcsup.2013.07.012 PubMed PMID: 26217116; PubMed Central PMCID: PMC4041476.
9. Conforti C, Zalaudek I. Epidemiology and Risk Factors of Melanoma: A Review. *Dermatol Pract Concept*. 1 luglio 2021;11(Suppl 1):e2021161S. doi:10.5826/dpc.11S1a161S PubMed PMID: 34447610; PubMed Central PMCID: PMC8366310.
10. Bulliard JL, Cox B, Elwood JM. Latitude gradients in melanoma incidence and mortality in the non-Maori population of New Zealand. *Cancer Causes Control CCC*. maggio 1994;5(3):234–40. doi:10.1007/BF01830242 PubMed PMID: 8061171.
11. AIOM [Internet]. [citato 5 maggio 2026]. I numeri del cancro in Italia. Disponibile su: <https://www.aiom.it/i-numeri-del-cancro-in-italia/>

12. MANUALE DI DERMATOLOGIA MEDICA E CHIRURGICA 6/ED [Internet]. [citato 5 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.mheducation.it/manuale-di-dermatologia-medica-e-chirurgica-6-ed-9788838639937-italy>
13. Briatico G, Mancuso P, Argenziano G, Longo C, Mangone L, Moscarella E, et al. Trends in cutaneous melanoma mortality in Italy from 1982 to 2016 [Internet]. 2022. doi:10.1111/ijd.16173
14. Bucci L, Mancini S, Zamagni F, Crocetti E, Dal Maso L, Ferretti S, et al. North-south differences in incidence and surveillance of cutaneous malignant melanoma in Italy [Internet]. 2024. doi:10.1177/03008916241255458
15. EpiCentro. Melanoma - EpiCentro - Istituto Superiore di Sanità [Internet]. [citato 5 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.epicentro.iss.it/melanoma/>
16. Wang SQ, Setlow R, Berwick M, Polsky D, Marghoob AA, Kopf AW, et al. Ultraviolet A and melanoma: a review. *J Am Acad Dermatol*. maggio 2001;44(5):837–46. doi:10.1067/mjd.2001.114594 PubMed PMID: 11312434.
17. Tope P, Morais S, El-Zein M, Franco EL, Malagón T. Differences in site-specific cancer incidence by individual- and area-level income in Canada from 2006 to 2015. *Int J Cancer*. 2023;153(10):1766–83. doi:10.1002/ijc.34661
18. Yuan J, Li X, Yu S. Global, Regional, and National Incidence Trend Analysis of Malignant Skin Melanoma Between 1990 and 2019, and Projections Until 2034. *Cancer Control*. 1 agosto 2024;31:10732748241227340. doi:10.1177/10732748241227340
19. King A, Brandts-Longtin O, Somayaji C, McDonald JT, Li H, Aw K, et al. Impact of Social Determinants on Melanoma Outcomes in Canada: A Single-Centre Retrospective Study. *J Surg Oncol*. ottobre 2025;132(5):869–75. doi:10.1002/jso.70069 PubMed PMID: 40874540; PubMed Central PMCID: PMC12501918.
20. Rossi M, Pellegrini C, Cardelli L, Ciciarelli V, Di Nardo L, Fagnoli MC. Familial Melanoma: Diagnostic and Management Implications. *Dermatol Pract Concept*. 31 gennaio 2019;9(1):10–6. doi:10.5826/dpc.0901a03 PubMed PMID: 30775140; PubMed Central PMCID: PMC6368081.
21. Piccinin S, Doglioni C, Maestro R, Vukosavljevic T, Gasparotto D, D’Orazi C, et al. p16/CDKN2 and CDK4 gene mutations in sporadic melanoma development and progression. *Int J Cancer*. 20 febbraio 1997;74(1):26–30. doi:10.1002/(sici)1097-0215(19970220)74:1<26::aid-ijc5>3.0.co;2-2 PubMed PMID: 9036865.
22. Bradford PT, Freedman DM, Goldstein AM, Tucker MA. Increased risk of second primary cancers after a diagnosis of melanoma. *Arch Dermatol*. marzo 2010;146(3):265–72. doi:10.1001/archdermatol.2010.2 PubMed PMID: 20231496; PubMed Central PMCID: PMC3076705.
23. Bishop JN, Harland M, Randerson-Moor J, Bishop DT. Management of familial melanoma. *Lancet Oncol*. gennaio 2007;8(1):46–54. doi:10.1016/S1470-2045(06)71010-5 PubMed PMID: 17196510.

24. Olsen CM, Carroll HJ, Whiteman DC. Estimating the attributable fraction for melanoma: a meta-analysis of pigmentary characteristics and freckling. *Int J Cancer*. 15 novembre 2010;127(10):2430–45. doi:10.1002/ijc.25243 PubMed PMID: 20143394.
25. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer*. gennaio 2005;41(1):28–44. doi:10.1016/j.ejca.2004.10.015 PubMed PMID: 15617989.
26. Goldstein AM, Tucker MA. Dysplastic nevi and melanoma. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. aprile 2013;22(4):528–32. doi:10.1158/1055-9965.EPI-12-1346 PubMed PMID: 23549396; PubMed Central PMCID: PMC3616416.
27. Fabbri P, Gelmetti C, Leigheb G. *Manuale di dermatologia medica*. Elsevier srl; 2010. 344 p.
28. Karponis D, Stratigos IA, Joshy J, Craig PJ, Mistry K, van Bodegraven B, et al. Lentigo maligna: a review. *Clin Exp Dermatol*. 14 febbraio 2024;49(3):218–25. doi:10.1093/ced/llad394 PubMed PMID: 37966718.
29. Clark WH, Elder DE, Van Horn M. The biologic forms of malignant melanoma. *Hum Pathol*. 1 maggio 1986;17(5):443–50. doi:10.1016/S0046-8177(86)80032-6
30. Greenwald HS, Friedman EB, Osman I. Superficial spreading and nodular melanoma are distinct biological entities: a challenge to the linear progression model. *Melanoma Res*. febbraio 2012;22(1):1–8. doi:10.1097/CMR.0b013e32834e6aa0 PubMed PMID: 22108608; PubMed Central PMCID: PMC3253944.
31. Buja A, Rugge M, Damiani G, Zorzi M, De Toni C, Vecchiato A, et al. Sex Differences in Cutaneous Melanoma: Incidence, Clinicopathological Profile, Survival, and Costs. *J Womens Health*. luglio 2022;31(7):1012–9. doi:10.1089/jwh.2021.0223 PubMed PMID: 35076310; PubMed Central PMCID: PMC9299528.
32. Chamberlain AJ, Fritschi L, Kelly JW. Nodular melanoma: patients' perceptions of presenting features and implications for earlier detection. *J Am Acad Dermatol*. maggio 2003;48(5):694–701. doi:10.1067/mjd.2003.216 PubMed PMID: 12734497.
33. Kelly JW, Chamberlain AJ, Staples M, McAvoy B. Nodular melanoma. No longer as simple as ABC. *Aust Fam Physician*. 2003;32(9):706–9.
34. Segura S, Pellacani G, Puig S, Longo C, Bassoli S, Guitera P, et al. In vivo microscopic features of nodular melanomas: dermoscopy, confocal microscopy, and histopathologic correlates. *Arch Dermatol*. ottobre 2008;144(10):1311–20. doi:10.1001/archderm.144.10.1311 PubMed PMID: 18936395.
35. Broit N, Johansson PA, Rodgers CB, Walpole ST, Hayward NK, Pritchard AL. Systematic review and meta-analysis of genomic alterations in acral melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. maggio 2022;35(3):369–86. doi:10.1111/pcmr.13034 PubMed PMID: 35229492; PubMed Central PMCID: PMC9540316.

36. Hall KH, Rapini RP. Acral Lentiginous Melanoma. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 [citato 13 maggio 2026]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559113/> PubMed PMID: 32644539.
37. Pampena R, Lai M, Lombardi M, Mirra M, Raucci M, Lallas A, et al. Clinical and Dermoscopic Features Associated With Difficult-to-Recognize Variants of Cutaneous Melanoma: A Systematic Review. *JAMA Dermatol.* 1 aprile 2020;156(4):430–9. doi:10.1001/jamadermatol.2019.4912
38. Olla D, Neumeister MW. Mucosal Melanoma. *Clin Plast Surg.* ottobre 2021;48(4):707–11. doi:10.1016/j.cps.2021.05.010 PubMed PMID: 34503731.
39. Perez M, Abisaad JA, Rojas KD, Marchetti MA, Jaimes N. Skin cancer: Primary, secondary, and tertiary prevention. Part I. *J Am Acad Dermatol.* 1 agosto 2022;87(2):255–68. doi:10.1016/j.jaad.2021.12.066
40. Magiera B, Rybak J, Magiera K. Melanoma - risk factors and prevention strategies. *J Educ Health Sport.* 14 aprile 2023;21(1):185–96. doi:10.12775/JEHS.2023.21.01.017
41. Watts CG, Dieng M, Morton RL, Mann GJ, Menzies SW, Cust AE. Clinical practice guidelines for identification, screening and follow-up of individuals at high risk of primary cutaneous melanoma: a systematic review. *Br J Dermatol.* 1 gennaio 2015;172(1):33–47. doi:10.1111/bjd.13403
42. Goodson AG, Grossman D. Strategies for early melanoma detection: approaches to the patient with nevi. *J Am Acad Dermatol.* maggio 2009;60(5):719–38. doi:10.1016/j.jaad.2008.10.065 PubMed PMID: 19389517; PubMed Central PMCID: PMC2690513.
43. Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW. Early detection of malignant melanoma: the role of physician examination and self-examination of the skin. *CA Cancer J Clin.* 1985;35(3):130–51. doi:10.3322/canjclin.35.3.130 PubMed PMID: 3921200.
44. Garrison ZR, Hall CM, Fey RM, Clister T, Khan N, Nichols R, et al. Advances in Early Detection of Melanoma and the Future of At-Home Testing. *Life.* 9 aprile 2023;13(4):974. doi:10.3390/life13040974 PubMed PMID: 37109503; PubMed Central PMCID: PMC10145469.
45. Harrington E, Clyne B, Wesseling N, Sandhu H, Armstrong L, Bennett H, et al. Diagnosing malignant melanoma in ambulatory care: a systematic review of clinical prediction rules. *BMJ Open.* 6 marzo 2017;7(3):e014096. doi:10.1136/bmjopen-2016-014096 PubMed PMID: 28264830; PubMed Central PMCID: PMC5353325.
46. Grob JJ, Bonerandi JJ. The ‘Ugly Duckling’ Sign: Identification of the Common Characteristics of Nevi in an Individual as a Basis for Melanoma Screening. *Arch Dermatol.* 1 gennaio 1998;134(1):103–4. doi:10.1001/archderm.134.1.103-a

47. Ilyas M, Costello CM, Zhang N, Sharma A. The role of the ugly duckling sign in patient education. *J Am Acad Dermatol.* 1 dicembre 2017;77(6):1088–95. doi:10.1016/j.jaad.2017.06.152
48. Walter FM, Prevost AT, Vasconcelos J, Hall PN, Burrows NP, Morris HC, et al. Using the 7-point checklist as a diagnostic aid for pigmented skin lesions in general practice: a diagnostic validation study. *Br J Gen Pract.* maggio 2013;63(610):e345–53. doi:10.3399/bjgp13X667213 PubMed PMID: 23643233; PubMed Central PMCID: PMC3635581.
49. Levit EK, Kagen MH, Scher RK, Grossman M, Altman E. The ABC rule for clinical detection of subungual melanoma. *J Am Acad Dermatol.* febbraio 2000;42(2 Pt 1):269–74. doi:10.1016/S0190-9622(00)90137-3 PubMed PMID: 10642684.
50. Cordoro KM, Gupta D, Frieden IJ, McCalmont T, Kashani-Sabet M. Pediatric melanoma: results of a large cohort study and proposal for modified ABCD detection criteria for children. *J Am Acad Dermatol.* giugno 2013;68(6):913–25. doi:10.1016/j.jaad.2012.12.953 PubMed PMID: 23395590.
51. Silverberg NB, McCuaig CC. Melanoma in Childhood: Changing Our Mind-set.
52. Ovid [Internet]. [citato 20 maggio 2026]. Accuracy of dermatoscopy for the diagnosis of... : Journal of the American Academy of Dermatology. Disponibile su: <https://www.ovid.com/journals/jaade/fulltext/10.1016/j.jaad.2017.07.022~accuracy-of-dermatoscopy-for-the-diagnosis-of-nonpigmented> doi:10.1016/j.jaad.2017.07.022
53. Zalaudek I, Docimo G, Argenziano G. Using dermoscopic criteria and patient-related factors for the management of pigmented melanocytic nevi. *Arch Dermatol.* luglio 2009;145(7):816–26. doi:10.1001/archdermatol.2009.115 PubMed PMID: 19620566; PubMed Central PMCID: PMC2856040.
54. Benvenuto-Andrade C, Dusza SW, Agero ALC, Scope A, Rajadhyaksha M, Halpern AC, et al. Differences between polarized light dermoscopy and immersion contact dermoscopy for the evaluation of skin lesions. *Arch Dermatol.* marzo 2007;143(3):329–38. doi:10.1001/archderm.143.3.329 PubMed PMID: 17372097.
55. Madooei A, Drew MS. Incorporating Colour Information for Computer-Aided Diagnosis of Melanoma from Dermoscopy Images: A Retrospective Survey and Critical Analysis. *Int J Biomed Imaging.* 2016;2016:4868305. doi:10.1155/2016/4868305 PubMed PMID: 28096807; PubMed Central PMCID: PMC5206785.
56. Argenziano G, Catricalà C, Ardigo M, Buccini P, De Simone P, Eibenschutz L, et al. Seven-point checklist of dermoscopy revisited. *Br J Dermatol.* aprile 2011;164(4):785–90. doi:10.1111/j.1365-2133.2010.10194.x PubMed PMID: 21175563.
57. Pellacani G, Pepe P, Casari A, Longo C. Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. *Br J Dermatol.* novembre 2014;171(5):1044–51. doi:10.1111/bjd.13148 PubMed PMID: 24891083.

58. Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Malvehy J, Soyer HP, curatori. *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Diseases* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012 [citato 22 maggio 2026]. Disponibile su: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-21997-9> doi:10.1007/978-3-642-21997-9
59. Shahriari N, Grant-Kels JM, Rabinovitz H, Oliviero M, Scope A. Reflectance confocal microscopy: Principles, basic terminology, clinical indications, limitations, and practical considerations. *J Am Acad Dermatol*. gennaio 2021;84(1):1–14. doi:10.1016/j.jaad.2020.05.153 PubMed PMID: 32553679.
60. Braghiroli NF, Sugerik S, Freitas LAR de, Oliviero M, Rabinovitz H. The skin through reflectance confocal microscopy — Historical background, technical principles, and its correlation with histopathology. *An Bras Dermatol*. 2022;97(6):697–703. doi:10.1016/j.abd.2021.10.010 PubMed PMID: 36153173; PubMed Central PMCID: PMC9582891.
61. Que SKT, Fraga-Braghiroli N, Grant-Kels JM, Rabinovitz HS, Oliviero M, Scope A. Through the looking glass: Basics and principles of reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol*. 1 agosto 2015;73(2):276–84. doi:10.1016/j.jaad.2015.04.047
62. Scope A, Longo C. Recognizing the benefits and pitfalls of reflectance confocal microscopy in melanoma diagnosis. *Dermatol Pract Concept*. luglio 2014;4(3):67–71. doi:10.5826/dpc.0403a13 PubMed PMID: 25126463; PubMed Central PMCID: PMC4132003.
63. Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. In vivo assessment of melanocytic nests in nevi and melanomas by reflectance confocal microscopy. *Mod Pathol*. aprile 2005;18(4):469–74. doi:10.1038/modpathol.3800330
64. Ahlgrimm-Siess V, Laimer M, Rabinovitz HS, Oliviero M, Hofmann-Wellenhof R, Marghoob AA, et al. Confocal Microscopy in Skin Cancer. *Curr Dermatol Rep*. 25 aprile 2018;7(2):105. doi:10.1007/s13671-018-0218-9 PubMed PMID: 29780659.
65. Dinnes J, Deeks JJ, Saleh D, Chuchu N, Bayliss SE, Patel L, et al. Reflectance confocal microscopy for diagnosing cutaneous melanoma in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 4 dicembre 2018;2018(12):CD013190. doi:10.1002/14651858.CD013190 PubMed PMID: 30521681; PubMed Central PMCID: PMC6492459.
66. Smoller BR. Histologic criteria for diagnosing primary cutaneous malignant melanoma. *Mod Pathol*. febbraio 2006;19(2):S34–40. doi:10.1038/modpathol.3800508
67. Higgins HW, Lee KC, Galan A, Leffell DJ. Melanoma in situ: Part II. Histopathology, treatment, and clinical management. *J Am Acad Dermatol*. 1 agosto 2015;73(2):193–203. doi:10.1016/j.jaad.2015.03.057
68. Puckett Y, Wilson AM, Farci F, Thevenin C. Melanoma Pathology. In: StatPearls [Internet] [Internet]. StatPearls Publishing; 2024 [citato 2 giugno 2026]. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK459367/> PubMed PMID: 29083592.

69. Busam KJ. Molecular pathology of melanocytic tumors. *Semin Diagn Pathol.* novembre 2013;30(4):362–74. doi:10.1053/j.semdp.2013.11.002 PubMed PMID: 24342290.
70. Whiteman D, Armstrong BK, Greinert R, Tommasino M. Skin cancer. In: *World Cancer Report: Cancer research for cancer prevention* [Internet]. International Agency for Research on Cancer; 2020 [citato 2 giugno 2026]. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK606520/>
71. Linee guida AIOM 2023 [Internet]. [citato 2 giugno 2026]. Disponibile su: https://www.iss.it/documents/20126/8403839/LG+127_Melanoma_agg-ago2023_rev-nov.pdf/d1e6e188-6e08-8cd6-5ac7-3e1f83dce7c6?t=1702303171666
72. Joyce KM. Surgical Management of Melanoma. In: Ward WH, Farma JM, curatori. *Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2017 [citato 3 giugno 2026]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK481850/> PubMed PMID: 29461777.
73. BHATIA S, TYKODI SS, THOMPSON JA. Treatment of Metastatic Melanoma: An Overview. *Oncol Williston Park N.* maggio 2009;23(6):488–96. PubMed PMID: 19544689; PubMed Central PMCID: PMC2737459.
74. Rajadhyaksha M, González S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol.* settembre 1999;113(3):293–303. doi:10.1046/j.1523-1747.1999.00690.x PubMed PMID: 10469324.
75. Betti R, Agape E, Vergani R, Moneghini L, Cerri A. An observational study regarding the rate of growth in vertical and radial growth phase superficial spreading melanomas. *Oncol Lett.* settembre 2016;12(3):2099–102. doi:10.3892/ol.2016.4813 PubMed PMID: 27602146; PubMed Central PMCID: PMC4998523.
76. Deinlein T, Arzberger E, Zalaudek I, Massone C, Garcias-Ladaria J, Oliveira A, et al. Dermoscopic characteristics of melanoma according to the criteria «ulceration» and «mitotic rate» of the AJCC 2009 staging system for melanoma. *PloS One.* 2017;12(4):e0174871. doi:10.1371/journal.pone.0174871 PubMed PMID: 28399177; PubMed Central PMCID: PMC5388460.
77. Lallas K, Kittler H, Tschandl P, Liopyris K, Amaral T, Argenziano G, et al. Predictive models of melanoma metastasis based on dermatoscopy in an international retrospective human reader study. *Nat Commun.* 8 dicembre 2025;16(1):10940. doi:10.1038/s41467-025-65972-w
78. Podolec K, Bronikowska A, Pirowska M, Wojas-Pelc A. Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas. *Postepy Dermatol Alergol.* ottobre 2020;37(5):677–84. doi:10.5114/ada.2019.83221 PubMed PMID: 33240005; PubMed Central PMCID: PMC7675076.

RINGRAZIAMENTI

Desidero innanzitutto ringraziare la mia relatrice, la Professoressa Francesca Farnetani, che mi ha permesso di avvicinarmi di più a quel mondo, che, spero, farà parte del mio futuro, ovvero la dermatologia. Con la Sua dolcezza e cordialità mi ha consentito di approfondire al meglio e con i migliori strumenti questo argomento.

Un sentito ringraziamento va senz'altro al Dottor Antonio Alma, che mi ha affiancato e seguito pazientemente durante questi mesi e, senza il quale, il mio lavoro non avrebbe avuto lo stesso risultato.

Una parola di ringraziamento anche a tutti i Professori incontrati durante questi sei anni: ognuno a modo suo, mi ha lasciato e insegnato qualcosa. Così come ci tengo a ringraziare i miei compagni di corso, anche se non ho avuto modo di relazionarmi con tutti, abbiamo condiviso un percorso di vita e auguro loro il meglio.

Il grazie più grande di tutti va sicuramente alla mia mamma e al mio papà, senza di loro nulla di tutto ciò sarebbe stato possibile:

Mamma, immagino già i tuoi occhi lucidi che mi guardano pieni di amore, se ti ringraziassi da qui a un tempo indefinito non basterebbe comunque per ripagarti di tutto quello che hai fatto per me in questi anni di vita. Abbiamo condiviso cose che rimarranno nostre per sempre, alcune sicuramente non tra le migliori, ma se penso ai momenti con te non posso far altro che sorridere; hai sempre una parola buona, un sorriso dolce per tutti e, anche quando tutto sembra nero che più nero non si può, arrivi tu e dici “tutto si risolve, pensa alle cose belle”. Puntuale come un orologio svizzero prima di ogni esame arrivava il tuo messaggio con annesso sticker con i cuoricini e orsetto portafortuna, mai una volta che ti sia dimenticata e, d'altronde, come potresti?! Sei la mia dolce mamma, ma sei anche la mia amica del cuore, la mia confidente e la mia consigliera numero uno; so che comunque vada, qualsiasi cosa faccia o qualsiasi traguardo raggiunga tu sarai sempre pronta ad incoraggiarmi, e anche quando io non sarò fiera di me e mi criticherò,

le tue parole mi faranno sentire una grande donna, comunque mi basterebbe essere anche solo un decimo di quella che sei tu.

Caro papà, prima di tutto mi raccomando, non ti arrabbiare perché ho citato prima la mamma :))

A parte gli scherzi, ci sono tante cose che vorrei dirti e tante per cui dovrei ringraziarti, visto che qualsiasi cosa io sappia fare l'ho imparato da te: mi hai trasmesso l'amore per lo sport, la tenacia, la voglia di spingermi oltre e dare sempre il meglio, purtroppo non la sicurezza in me stessa, ma forse è stata proprio la Provvidenza a volerlo, ben sapendo che c'eri tu al mio fianco. Sei il mio fan numero uno dal giorno zero, hai sempre voluto e so che vuoi tuttora solo il meglio per me, qualche volta non è così facile da comprendere e, per una persona tanto critica verso sé stessa come sono io, può essere visto come un giudizio negativo, ma in realtà posso solo immaginare l'amore che hai per me e quanto daresti per vedermi realizzata e felice. Abbiamo condiviso insieme questo percorso, CFU dopo CFU, sei sempre stato la persona più interessata di tutti a sapere come andassero le cose, potevo raccontarti ogni dettaglio dell'esame, sfogarmi, chiederti un parere; così come non dimenticherò facilmente la curiosità con cui hai ascoltato anche e soprattutto i dettagli più scabrosi di ogni esperienza di tirocinio, proprio quelli che di solito nessuno vuole sentire, io ero già pronta con tanto di foto per te. Non ti ho mai detto che, qualche estate fa, ho trovato una lettera che avevi scritto per me nel 2017, ho preferito custodire questo segreto, al quale ripenso spesso quando litighiamo e che mi fa essere sempre più certa di come dietro quella corazza tutta muscoli ci sia un cuore di panna che trabocca d'amore per le tue bimbe. Quando mi chiedono come sia mio padre mi viene in mente un'immagine ben specifica: non so se ti ricordi quella foto mentre corro una campestre a Bologna, dove tra tutti gli spettatori dietro le transenne, un po' spostato dagli altri, si distingue nettamente la tua figura che si sbraccia e urla consigli e parole di forza nella mia direzione. Ecco questo papà sei tu per me: ogni volta in cui ero in ansia durante un esame mi bastava stringere il nostro portafortuna ed era come se ti sentissi urlare tra la folla per darmi tutto il tuo coraggio. So che non te lo dico tanto spesso, ma spero tu lo sappia "Ti voglio un bene immenso".

A mia sorella Martina, sì, c'è un grazie anche per te. Per te che sei la mia Luna, quando io sono il Sole, siamo così diverse, ma ci completiamo. Tra di noi non è sempre tutto facile anzi, ma dentro di me so di poter contare su di te sempre, e spero che tu possa pensare lo stesso di me. Sei una grande donna, e anche se sei mia sorella minore, ho sempre avuto tanto da imparare da te, che ti sei dimostrata forte e coraggiosa in diverse occasioni della vita. Ti ringrazio perché so che la tua mano sarà sempre lì e se l'allungherò sarà pronta a stringere la mia per saltare insieme (anche se hai paura dell'altezza).

Un pensiero ai miei dolci nonni, come sono grata di avervi ancora tutti e quattro! Ho sempre ricevuto una chiamata, un supporto e anche diverse preghiere portafortuna da voi in questi anni. La vostra saggezza mi ha cresciuta e accompagnata dalla prima infanzia e spero mi accompagnerà ancora per molto.

Un grazie speciale va alla mia migliore amica Alessia, a te che sei con me da anni, nelle montagne russe delle nostre vite, non ho mai avuto nemmeno bisogno di girarmi per sapere che tu fossi ancora lì perché ne ho la certezza. Siamo cresciute insieme, e anche se più lontane in qualche momento, nei rispettivi traguardi ci siamo sempre state l'una per l'altra a supportarci e soprattutto sopportarci (forse peggio per le persone intorno a noi!). Dicono che le amicizie con le liti siano quelle che durano di più e, allora, noi dureremo perfino nella tomba amica mia, non auguro a nessuno di sentirci discutere e penso che diversi qui presenti possano confermarlo. Sei una persona speciale, genuina e vera come poche al mondo, un grande tesoro che sono grata di aver trovato e che mi tengo stretto ogni giorno, poiché d'altronde oramai nessuna nuova esperienza o obiettivo avrebbe lo stesso significato senza di te. Non cambiare mai, ti adoro!

Una menzione importante va fatta ai miei amici del "Dong" (gruppo allargato, non solo in senso stretto). Con voi ragazzi c'è sempre occasione di divertirsi e lasciare un po' da parte tutti i problemi quotidiani, so, però, che posso contare sulla vostra presenza anche per le cose più serie, nel vostro modo ovviamente, ma altrimenti non sareste voi. Scherzi a parte, ho conosciuto dei ragazzi che si impegnano e credono veramente in quello che fanno, riuscendoci piuttosto bene, ma che, soprattutto, conoscono il valore della vera

amicizia. Quest'anno e mezzo non sarebbe stato lo stesso senza la vostra compagnia e il percorso verso la laurea sarebbe pesato sicuramente almeno 50 kg in più!

In questi ringraziamenti non può assolutamente mancare un posto speciale per le "mie amiche dello stadio", o meglio per la "Cantera". Alice, Marta, Lisa, Greta, Elisa e Maria Elena, che dire di voi amiche?! Avete reso quello che era partito come un lavoretto per fare qualcosa durante lo studio, come un passatempo, il nostro regno del gossip, ma soprattutto siete diventate tutte parte integrante della mia vita, confidenti durante ore di lavoro sui taccuini a ridere, ma anche a piangere qualche volta, sempre con il sorriso e la classe che, come direbbe chi noi sappiamo, una hostess deve avere. Avete fatto parte di un percorso che, anche se oramai, in parte, concluso, porterò sempre con me, ma che sono sicura non significhi la fine della meravigliosa amicizia che abbiamo costruito. Siete speciali e bellissime!

Durante questo ultimo anno ho costruito tanti nuovi legami, che mi hanno portato a fare esperienze sempre diverse ed entusiasmanti; tutto ciò mi ha fatto rendere conto che non serve conoscersi da una vita per capire quanto una persona possa fare per te anche in poco tempo. Non sono necessarie grandi cose o gesti speciali, ma quando sei con le persone giuste che ti arrivano al cuore bastano due chiacchiere in macchina, una domenica allo stadio o al Kokonuts, una partita di calcio a 7 al gelo, una serata a fare striscioni in un garage o anche una birra e un panino in un pub. Quindi grazie a Giulia, Ilenia e Gaia, a Sofia e Matilde, agli Arancini Meccanici e, sì dai, a tutta la squadra del Boma Fellegara; non potendo menzionare tutti singolarmente, un grazie generale a chi ha deciso di condividere con me anche solo qualche momento o un po' di più, so di essermi arricchita di vita e circondata d'amore nell'ultimo periodo e ne sono grata.

Infine, ma non assolutamente per importanza, anzi, c'è il ringraziamento a una delle persone più speciali e genuine che io conosca, alla mia amica Mariachiara. In realtà chiamarti amica sarebbe troppo riduttivo per definire tutto quello che sei per me. Sei mia sorella non di sangue, il mio rifugio nella gioia più grande e nel dolore peggiore, il mio porto sicuro, quella persona senza nemmeno pensarci mi viene spontaneo chiamare in quasi tutte le situazioni, quella a cui penso quando sto vivendo un'esperienza e non vedo

l'ora di raccontarla, quella a cui voglio chiedere consiglio per prima e quella di cui mi fido di più; sei la mia compagna di studi, la persona con cui ho voluto festeggiare e voglio continuare a festeggiare ogni traguardo che sia professionale o no, con cui ho pianto tanto e riso altrettanto, con cui ho fatto sport, con cui ho cucinato (o meglio ti ho aiutato a cucinare), con cui ho mangiato tante cose buone. Sei tutto questo e molto molto molto di più, probabilmente a te andrebbe dedicata tutta la mia tesi, perché nella vita ho poche certezze ma una è proprio che se quel giorno di giugno a quel pranzo tra nuovi compagni di corso, dove non avevo nemmeno tanta voglia di venire, non ti avessi conosciuta non sarei sicuramente qui e non sarei la persona che sono ora. È iniziato come un aiuto e una compagnia nello studio, ma fin da subito io ho capito che ci eravamo legate a vicenda uno di quei fili invisibili, di quelli che si possono allungare all'infinito ma che non si spezzano mai, di modo che non importa quanto la vita ci porterà lontano, ma sapremo sempre come e dove ritrovarci; anche se so e spero con tutto il cuore, che non ci separeremo mai davvero. L'altro giorno pensavo proprio che l'unica vera cosa che mi manca della sessione sia quella di poterla condividere con te. Sicuramente in questo salto nel futuro che ci attende, l'idea di non averti al mio fianco è tra gli aspetti che più mi spaventano, ma sono certa che, proprio grazie al filo che dicevo, potremmo allontanarci un po', ma mai perderci e sarà sempre tutto come prima. Ci sono talmente tante cose che vorrei dirti e per le quali vorrei ringraziarti, alcune meglio tenerle per noi :), altre invece preferisco custodirle io segretamente nel mio cuore, ricordi che porterò con me per sempre e dei quali vorrò parlare con te, magari fra dieci anni, sedute in uno dei nostri bar preferiti con un cappuccino e un matcha latte mentre dividiamo non solo esperienze e riflessioni, ma anche un cibo delizioso. Mary grazie è l'unica parola del vocabolario italiano che mi viene in mente per farti capire quanto sono grata di aver condiviso questa esperienza universitaria e di vita in generale con te, ma soprattutto quanto sono grata che tu sia nella mia vita. E forse grazie è anche la parola che più ti rappresenta, nella tua semplicità e genuinità, nella tua bontà d'animo e di spirito; sei una delle persone più belle che io conosca e per fortuna sei una mia grande amica, nella vita farai tante grandi cose e io sarò sempre lì con te, pronta a parlarne come solo noi sappiamo. Ti voglio un bene che sarà sempre maggiore dell'area che potrà coprire il nostro filo invisibile, GRAZIE!

Come ho ringraziato tutte le nuove conoscenze fatte, ci tengo a ringraziare anche tutti coloro che, seppur non qui presenti in questo momento, hanno fatto parte della mia vita, a chi ha lasciato un segno più profondo, a chi c'è stato solo per un sorriso e una parola amica, e anche a chi ha contribuito in modo negativo. Sono fermamente convinta che tutte le esperienze che facciamo e le persone che conosciamo, contribuiscano a renderci ciò che siamo, arricchendo in modo diverso la nostra personalità; ed io non sarei sicuramente qui come sono adesso, alla fine di un percorso difficilissimo e fantastico allo stesso tempo, se non avessi incontrato persone belle e brutte, se non fossi caduta per rialzarmi, se non avessi sbagliato tante volte e fatto bene altrettante. Ci ho messo tanto tempo e fatica, e, forse, in parte, sto ancora cercando di capire quale dono speciale sia la vita, con i suoi lati negativi e positivi, quanto ci sia in serbo per noi anche quando vediamo tutto nero, ma di una cosa sono certa: bisogna godersi appieno ogni momento, possibilmente con il sorriso e la voglia di crescere e migliorarsi, proprio AFFAMATI DI VITA.