



Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica  
*Corso di Laurea Magistrale in Biologia*

TESI

*Valutazione dei fattori prognostici del carcinoma squamoso cutaneo: confronto tra  
microscopia ottica e Digital Pathology*

Relatore:

Dott. Elia Ranzato

Candidata:

Dott.ssa Sara Aloï

Matr. 20035961

Co-Relatore:

Dott. Alberto Maria Pisacane

*Anno accademico 2025/2026*



## INDICE

|                                                                            |            |
|----------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>1. INTRODUZIONE: Carcinoma squamocellulare cutaneo .....</b>            | <b>4</b>   |
| <b>1.1. Classificazione clinico-patologica .....</b>                       | <b>4</b>   |
| <b>1.2. Epidemiologia .....</b>                                            | <b>13</b>  |
| <b>1.3. Eziologia e patogenesi.....</b>                                    | <b>14</b>  |
| <b>1.4. Stadiazione e fattori prognostici .....</b>                        | <b>20</b>  |
| 1.4.1. Spessore e profondità di invasione .....                            | 20         |
| 1.4.2. Grado di differenziazione cellulare.....                            | 21         |
| 1.4.3. Coinvolgimento dei margini chirurgici.....                          | 22         |
| 1.4.4. Invasione perineurale .....                                         | 22         |
| 1.4.5. Ulcerazione .....                                                   | 23         |
| 1.4.6. Reazione linfocitaria peritumorale.....                             | 23         |
| 1.4.7. Altri marker istologici di prognosi.....                            | 23         |
| <b>1.5. Diagnosi .....</b>                                                 | <b>26</b>  |
| 1.5.1. Microscopio ottico e limiti dell'osservazione tradizionale.....     | 31         |
| 1.5.2. Digital Pathology .....                                             | 32         |
| 1.5.2.1. Principi e tecnologie .....                                       | 32         |
| 1.5.2.2. Applicazioni pratiche .....                                       | 33         |
| 1.5.2.3. Vantaggi .....                                                    | 33         |
| 1.5.2.4. Limiti.....                                                       | 34         |
| <b>1.6. Trattamento, follow-up e prevenzione .....</b>                     | <b>34</b>  |
| <b>2. SCOPO DELL'ELABORATO.....</b>                                        | <b>40</b>  |
| <b>3. MATERIALI E METODI.....</b>                                          | <b>41</b>  |
| <b>3.1. Casistica: criterio di selezione e tipologia di campioni .....</b> | <b>41</b>  |
| <b>3.2. Winsap 3.0. ....</b>                                               | <b>41</b>  |
| <b>3.3. Sistema di archiviazione: bbTraccia.....</b>                       | <b>42</b>  |
| <b>3.4. Preparazione dei campioni.....</b>                                 | <b>42</b>  |
| 3.4.1. Immunoistochimica P40 .....                                         | 44         |
| <b>3.5. Valutazione al microscopio ottico .....</b>                        | <b>45</b>  |
| 3.5.1. Parametri considerati e osservati .....                             | 45         |
| <b>3.6. Valutazione con Digital Pathology .....</b>                        | <b>103</b> |
| 3.6.1. NanoZoomer S60.....                                                 | 103        |
| 3.6.2. NDP.scan.....                                                       | 105        |
| 3.6.3. NDP.view 2 .....                                                    | 107        |
| 3.6.4. Parametri considerati e osservati .....                             | 107        |
| <b>4. RISULTATI E DISCUSSIONE .....</b>                                    | <b>170</b> |
| <b>4.1. Analisi statistica .....</b>                                       | <b>170</b> |
| 4.1.1. Distribuzione delle categorie di rischio .....                      | 170        |
| 4.1.2. Confronto della stratificazione prognostica tra i due metodi.....   | 171        |

|                                                                                  |            |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.1.3. Matrice di riclassificazione del rischio .....                            | 171        |
| 4.1.4. Concordeza dei parametri morfologici .....                                | 171        |
| 4.1.5. Confronto morfometrico tra microscopia ottica e Digital Pathology .....   | 172        |
| 4.1.6. Correlazione tra le misurazioni ottenute con le due metodiche .....       | 172        |
| 4.1.7. Fattori prognostici sfavorevoli rilevati in Digital Pathology .....       | 172        |
| 4.1.8. Volume tumorale stimato mediante Digital Pathology .....                  | 173        |
| 4.1.9. Interpretazione dei risultati.....                                        | 173        |
| 4.1.10. Confronto complessivo .....                                              | 174        |
| <b>4.2. Vantaggi e limiti riscontrati .....</b>                                  | <b>175</b> |
| <b>5. CONCLUSIONE .....</b>                                                      | <b>177</b> |
| <b>6. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA .....</b>                                        | <b>179</b> |
| <b>7. ALLEGATI.....</b>                                                          | <b>185</b> |
| 7.1. Tabella dei casi di cSCC .....                                              | 185        |
| 7.2. Tabella riassuntiva dei principali fattori prognostici del cSCC .....       | 193        |
| 7.3. Istogrammi di distribuzione .....                                           | 194        |
| 7.4. Schede di riferimento dei casi: Microscopia ottica e Digital Pathology..... | 195        |
| 7.6. Interpretazione dei dati e risultati.....                                   | 197        |
| 7.7. Protocollo di utilizzo NanoZoomer S60.....                                  | 201        |
| <b>8. RINGRAZIAMENTI .....</b>                                                   | <b>203</b> |

## 1. INTRODUZIONE: Carcinoma squamocellulare cutaneo

Il carcinoma squamocellulare cutaneo (cSCC), il secondo tumore cutaneo non melanoma (NMSC) è un carcinoma cheratinocitario che rappresenta uno dei tumori più comuni con un'incidenza crescente. Il cSCC può essere in situ o in forma invasiva. Un fattore di rischio significativo per il cSCC è l'età avanzata, insieme all'esposizione solare cumulativa, alla pelle chiara, all'immunosoppressione prolungata e a precedenti diagnosi di cancro della pelle. Sebbene la maggior parte dei cSCC possa essere trattata chirurgicamente, una parte di essi recidiva e metastatizza, portando al decesso. Il cSCC può insorgere de novo o essere il risultato di una progressione della cheratosi attinica, un carcinoma in situ. Il processo di sviluppo e progressione del cSCC è caratterizzato da mutazioni nei geni coinvolti nell'omeostasi epidermica e da diverse alterazioni, come modificazioni epigenetiche, infezioni virali o cambiamenti microambientali. Pertanto, lo sviluppo del cSCC è un processo graduale con diverse fasi definite istologicamente e patologicamente. L'escissione chirurgica è il trattamento di prima linea per il cSCC invasivo. Inoltre, la radioterapia può essere considerata come trattamento primario nei pazienti non candidati alla chirurgia. Diversi bersagli farmacologici hanno consentito lo sviluppo di nuove terapie sistemiche, tra cui l'immunoterapia con inibitori dei checkpoint immunitari, come Cemiplimab, e inibitori del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) per il cSCC metastatico e localmente avanzato. (Fania L. et al., 2021)

### 1.1. Classificazione clinico-patologica

La stadiazione dei tumori può essere effettuata utilizzando diversi tipi di classificazione:

-American Joint Committee on Cancer's (AJCC): i tumori vengono classificati in base alle loro dimensioni in termini di diametro clinico e a una serie di fattori di rischio. I tumori T1 e T2 si distinguono per un diametro del tumore superiore a 2 cm. Un diametro del tumore >4 cm, una lieve erosione ossea e un'invasione perineurale o profonda (>6 mm o oltre il grasso sottocutaneo) sono tutti marcatori di rischio elevato che possono portare a una progressione a T3.

-Union for the International Cancer Control (UICC): il diametro del tumore è utilizzato per differenziare T1 da T2 (<2 cm e >2 cm), mentre qualsiasi invasione delle strutture profonde diventa T3.

-Brigham & Women's Hospital (BWH): il numero di fattori di rischio presenti denomina la classificazione T. (Halim A.S. and Ramasenderan N., 2022).

Sebbene il sistema BWH non affronti le classificazioni linfonodali, metastatiche e i gruppi di stadi avanzati come fa il sistema di stadiazione AJCC, sembra fornire una prognosi migliore per i pazienti con cSCC localizzato. (Alam M. et al, 2018), (Tabella 1).

| Tumor Staging System | Definition                                                                                                     |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>AJCC</b>          |                                                                                                                |
| T1                   | Tumor ≤2 cm in greatest dimension                                                                              |
| T2                   | Tumor >2 cm but not greater than 4 cm in greatest dimension or with two or more high-risk factors <sup>a</sup> |
| T3                   | Tumor >4 cm in greatest diameter or minor bone invasion/perineural invasion or deep invasion                   |
| T4a                  | Tumor with gross cortical bone/marrow invasion                                                                 |
| T4b                  | Tumor with skull bone invasion and/or skull base foramen involvement                                           |
| <b>UICC</b>          |                                                                                                                |
| T1                   | Tumor ≤2 cm or less in greatest dimension                                                                      |
| T2                   | Tumor >2 cm in greatest dimension                                                                              |
| T3                   | Tumor with invasion of deep structures (eg, muscle, cartilage, bone [excluding axial skeleton], orbit)         |
| T4                   | Tumor with invasion of axial skeleton or direct perineural invasion of skull base                              |
| <b>BWH</b>           |                                                                                                                |
| T1                   | 0 high-risk factors <sup>b</sup>                                                                               |
| T2a                  | 1 high-risk factor                                                                                             |
| T2b                  | 2-3 high-risk factors                                                                                          |
| T3                   | ≥4 high-risk factors or bone invasion                                                                          |

Tabella 1: Differenze nella classificazione dei tumori (Ruiz E.S. et al, 2019)

Le caratteristiche cliniche del cSCC dipendono soprattutto dal grado di differenziazione della lesione. Il cSCC ben differenziato si manifesta con linfonodi squamosi o placche; il cSCC scarsamente differenziato si presenta principalmente come lesioni superficiali, ulcerate o emorragiche. A seconda dell'estensione, il cSCC può essere classificato come primario o avanzato. I cSCC primari sono cSCC non metastatici che possono essere facilmente rimossi chirurgicamente, e possono essere ulteriormente classificati come cSCC a basso o ad alto rischio, a seconda del rischio di recidiva. I fattori ad alto rischio includono diverse variabili cliniche e patologiche, come la dimensione e la posizione della lesione, i bordi scarsamente definiti e la rapida crescita del tumore.

Poiché il grado di differenziazione è un importante predittore, la stadiazione di Broder viene utilizzata per valutare questo parametro: il grado I include tumori composti da <25% di cellule indifferenziate, le lesioni di grado II con <50% di cellule indifferenziate, le lesioni di grado III con <75% di cellule indifferenziate e le lesioni di grado IV con >75% di cellule indifferenziate. (Fania L., et al., 2021).

I termini che definiscono il livello di progressione del cSCC sono i seguenti:

-cSCC ad alto rischio: la presenza di uno dei fattori di prognosi sfavorevole è ciò che definisce un cSCC come ad alto rischio.

Tuttavia, la rilevanza prognostica di ciascun fattore non è la stessa ed è noto che la combinazione di più fattori conferisce un rischio maggiore rispetto alla presenza di ciascuno di essi singolarmente. Secondo l'attuale sistema di stadiazione e il sistema alternativo BWH,

i cSCC ad alto rischio sarebbero considerati tumori T3/T4 secondo il sistema AJCC-8 o T2b/T3 secondo il sistema di stadiazione alternativo BWH. Tuttavia, molti tumori classificati secondo questi sistemi non sono particolarmente aggressivi.

-cSCC localmente avanzato: questi tumori sono stati definiti come quelli non potenzialmente curabili o che difficilmente possono essere curati con intervento chirurgico, radioterapia o trattamento combinato (intervento chirurgico e radioterapia) dopo la consultazione di un team multidisciplinare.

-cSCC metastatico: cSCC che si è diffuso dalla sua sede primaria. Nella maggior parte dei casi, le metastasi interessano i linfonodi o la ghiandola parotide e, in misura minore, altri organi.

Si ritiene che circa il 5% dei cSCC progredisca verso metastasi.

-cSCC avanzato e cSCC aggressivo: il termine cSCC avanzato è stato utilizzato per raggruppare il cSCC localmente avanzato e il cSCC metastatico. Il termine cSCC aggressivo è stato utilizzato per raggruppare cSCC metastatico e cSCC che porta al decesso a causa della progressione locale.

I termini avanzato e aggressivo, tuttavia, possono essere aspecifici e, pertanto, quando vengono utilizzati, è opportuno definire il contesto clinico a cui si riferiscono. (Cañueto J. et al., 2020). (Figura 1).

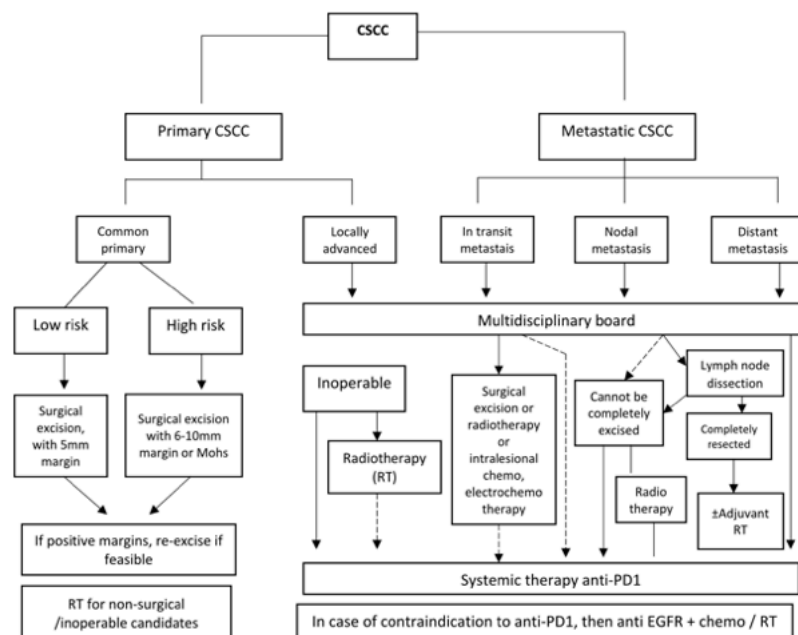


Figura 1: Classificazione del cSCC e le principali terapie. (Stratigos A.J. et al., 2020).

Le caratteristiche cliniche del cSCC sono estremamente polimorfe e dipendono anche dalla sede anatomica e dal sottotipo, le lesioni precursori del cSCC si classificano in:

-Cheratosi attinica: è la lesione precancerosa più comune, causata da esposizione cronica ai raggi UV. Le cheratosi attiniche (AK) sono macule o papule eritematose, squamose e talvolta ipercheratosiche che solitamente compaiono su superfici cutanee come viso, cuoio capelluto, dorso delle mani, décolleté e gambe nelle donne. Sono solitamente più piccole di 1 cm, sebbene possano fondersi per formare placche eritematose e squamose più grandi. Istologicamente, queste lesioni sono caratterizzate da cheratinociti disorganizzati e atipici confinati negli strati basali dell'epidermide (displasia dei cheratinociti basali). Si osservano pleomorfismo e nuclei grandi, ipercromatici, discheratosici e apoptotici. In molti casi, l'assenza dello strato granulare porta alla formazione di paracheratosi sulla superficie della lesione. Il derma superficiale mostra solitamente un infiltrato linfoide, più o meno denso, accompagnato da elastosi solare. (Carmena-Ramón R. et al., 2017).

-Malattia di Bowen (BD): noto anche come cSCC in situ, è caratterizzato principalmente da una placca eritematosa, nettamente delimitata e squamosa. Si riscontra più frequentemente sulla pelle esposta al sole: testa, collo ed estremità. Fino al 5% dei cSCC in situ può evolvere in cSCC invasivo. È un carcinoma intraepidermico con atipia dei cheratinociti a tutti i livelli dell'epidermide (cSCC in situ). Le principali caratteristiche istologiche sono la paracheratosi, l'ipercheratosi con un'epidermide caratterizzata da cheratinociti atipici in tutti gli strati epidermici, cheratinizzazione delle singole cellule, pleomorfismo dei nuclei, mitosi atipiche e cellule tumorali multinucleate. Lo strato basale spesso non è alterato. I cheratinociti possono mostrare alterazioni pagetoidi, mentre in altri casi presentano estese alterazioni a cellule chiare. Nel derma papillare si può spesso rilevare un infiltrato infiammatorio misto caratterizzato da linfociti e plasmacellule.

-Cheratoacantoma (KA): può anche essere considerato un sottotipo di cSCC. È più frequentemente rilevato nei maschi caucasici intorno ai 60 anni. La KA è anche correlata all'irradiazione ultravioletta (UV), all'esposizione all'HPV, all'immunodeficienza e alle anomalie della riparazione del DNA. La KA può anche svilupparsi da cicatrici e traumi. Inoltre, lo sviluppo di KA multipli è descritto in pazienti affetti da sindromi ereditarie, come la sindrome di Muir-Torre e la sindrome di Witten-Zak. La sua principale caratteristica clinica è rappresentata dalla regressione spontanea dopo una rapida crescita. È una proliferazione tumorale epiteliale simmetrica e circoscritta di cheratinociti con un tappo cheratinico centrale. Il KA può essere classificato anche come cSCC altamente differenziato.

-cSCC invasivo: Il cSCC invasivo viene rilevato principalmente sulla pelle esposta al sole e generalmente si presenta come un'ulcera persistente o ferita non cicatrizzabile. È stato

riportato che fino al 55% di tutti i cSCC si sviluppa sulla testa e sul collo, mentre l'area dorsale delle mani e degli avambracci è coinvolta fino al 18% dei casi. Inoltre, le gambe, la schiena e gli arti superiori sono rispettivamente coinvolti nel 13%, 4% e 3% dei casi. Tuttavia, il cSCC può coinvolgere qualsiasi area anatomica, comprese le labbra, l'ano e i genitali. Il cSCC invasivo è una neoplasia epiteliale caratterizzata da cheratinociti atipici con crescita localmente distruttiva e aumentato rischio di metastatizzazione. Istologicamente, è caratterizzato principalmente da cheratinociti atipici e discheratosici con nuclei ipercromatici e pleomorfi con mitosi. I cSCC ben differenziati presentano tipicamente perle cornee e cheratinizzazione unicellulare, mentre i cSCC scarsamente differenziati mostrano solitamente una mancanza di cheratinizzazione e numerose mitosi atipiche. È solitamente presente un infiltrato infiammatorio misto. (Fania L. et al., 2021).

Oltre alle varianti descritte precedentemente, si possono rilevare altre varianti istologiche:

-cSCC desmoplastico: caratterizzato da uno stroma desmoplastico che coinvolge almeno il 30% dello stroma. È principalmente associato a una diffusione metastatica.

-cSCC a cellule fusiformi: si sviluppa spesso su cicatrici post-traumatiche. Istologicamente, è caratterizzato da cellule fusiformi che coinvolgono il derma, ma con una desmoplasia stromale inferiore al 30%, lo stroma è solitamente mixoide con cellule pleomorfe.

-cSCC acantolitico (adenoacantoma): si sviluppa solitamente nella regione testa-collo in soggetti anziani. Istologicamente, mostra un quadro adenoideo con diverse cellule discheratosiche e una singola cellula flottante. La negatività all'antigene cantolitico e la positività per gli antigeni di membrana epiteliale consentono la differenziazione del cSCC cantolitico dalle neoplasie eccrine.

-cSCC cantolitico pseudovascolare (o adenoideo): è caratterizzato dalla presenza di un aspetto ghiandolare prominente con strutture pseudovascolari e cellule maligne con aspetti a chiodo che sezionano i fasci di collagene. (Fania L. et al., 2021).

-cSCC verrucoide (CVe): la neoplasia è caratterizzata da una proliferazione eso-endofitica con papillomatosi ed acantosi e spesso con crescita a margini arrotondati nel derma. L'invasione è compressiva piuttosto che infiltrativa. Le cellule neoplastiche mostrano solitamente scarsa atipia. Può insorgere in differenti sedi (regione ano-genitale: tumore di Buschke-Lowenstein; cavità orale: tumore di Ackerman o papillomatosi orale florida; pianta dei piedi: epitelioma cuniculatum). ("Linee Guida AIOM non-melanoma skin cancer"). Può essere associato ad alcuni sottotipi di HPV (HPV 6 e nell'epitelioma cuniculatum, 16 e 18 nella papillomatosi orale florida e nel CVe anogenitale). (Motaparthy K. et al., 2017).

-cSCC verrucoso (noto anche nelle aree genitali come tumore di Buschke-Löwenstein) è simile a CVE, caratterizzato da proliferazione squamosa esofitica con papillomatosi marcata e bassa atipia, presenza di alterazioni simili ai coilociti e una raccolta centrale di neutrofili. Istologicamente, presenta ipercheratosi, acantosi con epitelio squamoso ondulato, densamente cheratinizzato e ben differenziato. (Fania L. et al., 2021), (Motaparathi K. et al., 2017).

-cSCC adenoide (CSA): presenta aspetti acantolitici, pseudoghiandolari e pseudovascolari. Caratterizzato da una maggiore aggressività, recidività e possibilità di metastasi.

-cSCC adenosquamoso (CSAS) e acantolitico (CSAC): Variante aggressiva con capacità di recidiva e di metastasi; spesso aspetti anaplastici con differenziazione simil ghiandolare. (Linee Guida AIOM non-melanoma skin cancer"). Il CSAC rappresenta il 2-4% di tutti i CSc. (Motaparathi K. et al., 2017).

-cSCC neurotropico è caratterizzato da una diffusione perineurale, mentre il cSCC papillare spesso si manifesta nelle donne anziane e nei pazienti immunodepressi ed è caratterizzato da un prominente modello di crescita papillare, solitamente senza invasione profonda. (Fania L. et al., 2021).

-cSCC basaloide (CSB): neoplasia con aspetti solidi o lobulari di cellule simil-basali di piccole dimensioni e raggruppate, nuclei ipercromatici, ialinosi e necrosi coagulativa. ("Linee Guida AIOM non-melanoma skin cancer"). Le cellule sono positive per i marcatori immunocitochimici per le citocheratine, può essere associato ad alcuni sottotipi di HPV. Ha un comportamento aggressivo con possibilità di recidive e metastasi.

-cSCC papillare (CSP): presenta una proliferazione esofitica papillare con un asse fibrovascolare senza evidenza di invasione dermica profonda.

-cSCC cheratinizzante (CSK): proliferazione epidermoide ben o moderatamente differenziata spesso associata a VIN e PIN e a dermatosi croniche tipo lichenscleroso.

-cSCC tipo cheratoacantoma (CSKA): simula un cheratoacantoma ma presenta caratteri istologici più aggressivi con infiltrazione più estesa, anaplasia, pleomorfismo e numerose mitosi. ("Linee Guida AIOM non-melanoma skin cancer").

-cSCC sarcomatoide (CSSa): è una forma rara di cSCC, che si osserva principalmente in regioni esposte al sole e in pazienti anziani. I cheratinociti si infiltrano nel derma come singole cellule con nuclei allungati, con scarsi nidi o gruppi di cellule coesive. Risulta difficile la diagnosi differenziale con altre neoplasie a cellule fusiformi.

Il decorso del CCSa a cellule fuse di solito non è aggressivo, sebbene il suo verificarsi nel contesto di una radiodermite possa portare a una prognosi sfavorevole.



-cSCC desmoplastico (CSD): presenta desmoplasia stromale in almeno il 30% della neoplasia. La differenziazione squamosa può essere focale e spesso è presente invasione perineurale e perivascolare. La neoplasia può simulare una cicatrice o un dermatofibroma. Il comportamento è aggressivo con recidive e metastasi.

-cSCC a cellule chiare (CSaC): il carcinoma presenta cellule che simulano una differenziazione sebacea, ma con aree di cheratinizzazione e perle cornee.

-cSCC a cellule ad anello con castone (CSaAC): Le cellule del carcinoma simulano cellule ad anello con castone con vacuoli intracitoplasmatici.

-cSCC pigmentato (CSP): la componente epidermoide presenta cellule dendritiche melanocitiche S-100 e HMB45 positive alle colorazioni immunocitochimiche con presenza di pigmento melanico intracitoplasmatico. "La neoplasia può simulare un melanoma o un carcinoma basocellulare pigmentato." ("Linee Guida AIOM non-melanoma skin cancer").

-cSCC follicolare (CSF): definita da una proliferazione che origina dalla parete di un follicolo pilifero con parziale o totale sostituzione dell'infundibolo follicolare e delle ghiandole sebacee.

-cSCC insorto su idrocistoma eccrino ed apocrino. (Motaparthi K. et al., 2017).

In Tabella 2 possiamo osservare le principali varianti del cSCC, mentre nelle figure 2, 3, 4 e 5 le caratteristiche istologiche osservabili al microscopio ottico.

| Varianti                                                                       | Sede                                                                | Caratteri istologici                                                                          | IHK                                                                                   | Lesioni associate                                                        | Prognosi                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Cheratoacantoma</b>                                                         | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Ben differenziato,<br>cratere centrale con<br>cheratina; base netta;<br>confinato al derma    | NA                                                                                    | CA                                                                       | Eccellente                                                                             |
| <b>Linfoepiteliale</b>                                                         | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Cellule linfoidi<br>frammiste a cellule<br>neoplastiche                                       | Positiva: CK,<br>p63<br>Negativa: CK20,<br>EBV                                        | Non riportata                                                            | Prevalentemente<br>buona                                                               |
| <b>Verrucoide</b>                                                              | Genito-<br>crurale,<br>piedi                                        | Ben differenziato,<br>papille acantotiche,<br>cheratina tra le papille                        | NA                                                                                    | Lichen scleroso,<br>VIN, PeIN, AIN                                       | Eccellente (pura),<br>varianti ibride<br>correlata<br>componente meno<br>differenziata |
| <b>Pseudoghiandolare<br/>(acantolitica,<br/>adenoide,<br/>pseudovascolare)</b> | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Pseudovascolare,<br>pseudoghiandolare,<br>spazi secondari<br>all'acantolisi                   | Positiva: CK,<br>p63, p40<br>Negativa: CEA,<br>CD31, CD34,<br>Flt-1,<br>mucicarminio. | CA                                                                       | Intermedia/variabile                                                                   |
| <b>Adenosquamosa e<br/>mucoepidermoide</b>                                     | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Focolai di vera<br>differenziazione<br>ghiandolare                                            | Positiva: CEA;<br>mucicarminio                                                        | CA                                                                       | Da intermedia ad<br>aggressiva                                                         |
| <b>Desmoplastica<br/>(sclerosante)</b>                                         | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Reazione fibrotica<br>(reattiva); frequente<br>invasione perineurale<br>frequente             | Positiva: CK,<br>p63, p40                                                             | CA                                                                       | Da intermedia ad<br>aggressiva (recidive)                                              |
| <b>A cellule fusate<br/>(sarcomatoide)</b>                                     | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Cellule fusate<br>pleomorfe; mitosi<br>atipiche; assenza di<br>cheratinizzazione              | Positiva: CK,<br>p63, p40<br>Negativa: S100,<br>SOX10, desmina                        | CA                                                                       | Solitamente buona<br>se superficiali,<br>aggressiva profonda<br>e genitale             |
| <b>Mixoide</b>                                                                 | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Stroma mucinoso<br>prominente                                                                 | Positiva: ferro<br>colloidale<br>(stroma)                                             | CA                                                                       | Solitamente buona<br>se superficiali,<br>aggressiva se<br>profonda e genitale          |
| <b>Carcinosarcoma</b>                                                          | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Tumore bifasico;<br>epite-liale /<br>mesenchimale<br>(condro, osteo);<br>componente eterologa | Positiva: CK,<br>p63, p40<br>(epiteliale)<br>Variabile +/-<br>stroma                  | CA                                                                       | Intermedia,<br>aggressivo; diagnosi<br>tardiva                                         |
| <b>Malattia di Bowen<br/>invasiva</b>                                          | Testa collo;<br>aree esposte                                        | Aggregati basaloidei;<br>cheratinizzazione<br>centrale o comedo-<br>necrosi                   | Positiva: CK,<br>p63, p40                                                             | Malattia di Bowen<br>(CS in situ con<br>aspetti<br>basaloidei/bowenoidi) | Da intermedia ad<br>aggressiva                                                         |
| <b>Basaloide</b>                                                               | Solitamente<br>su mucose<br>(anche cute<br>genitale e<br>perianale) | Nidi di cellule<br>basaloidei; comedo-<br>necrosi; invasione<br>vascolare prominente          | Positiva: CK,<br>p63, p40, p16,<br>HPV alto rischio<br>Negativa: BER-<br>ep4, ck20    | CS in situ basaloide/<br>verrucoso (PeIN,<br>VIN, AIN)                   | Aggressiva                                                                             |
| <b>Carcinoma<br/>verrucoso</b>                                                 | Solitamente<br>mucose<br>(anche cute<br>genitale e<br>perianale)    | Superficie papillare e<br>base frastagliata;<br>coilocitosi a tutto<br>spessore               | Positiva: CK,<br>p63, p40, p16,<br>HPV alto rischio                                   | CS in situ basaloide/<br>verrucoso (PeIN,<br>VIN, AIN)                   | Intermedia                                                                             |

AIN (neoplasia intraepiteliale anale); CA (cheratosi attinica); CD (cluster di differenziazione); CEA (antigene carcinoembrionale); CK (citocheratine); HPV (papilloma virus umano); IHC (immunoistochimica); NA (non applicabile); PeIN (neoplasia intraepiteliale peniena); CS (carcinoma spinocellulare); VIN (neoplasia intraepiteliale vulvare)

Tabella 2: Varianti istologiche del cSCC. (Motaparthi K. et al., 2017).

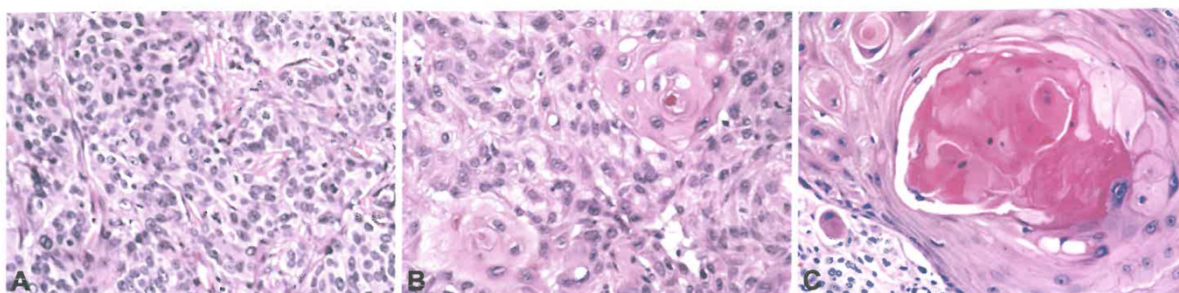


Figura 2: cSCC: Gradi di differenziazione citologica in cSCC invasivo, che vanno da cSCC scarsamente differenziato (A), con cellule arrotondate con elevati rapporti N:C; a cSCC moderatamente differenziato (B) che mostra focolai con distinte cellule squamose e piccoli focolai di formazione di cheratina; a cSCC ben differenziato (C) con regioni formate da cellule poliedriche relativamente grandi con abbondante citoplasma eosinofilo e abbondante formazione di cheratina. (WHO).

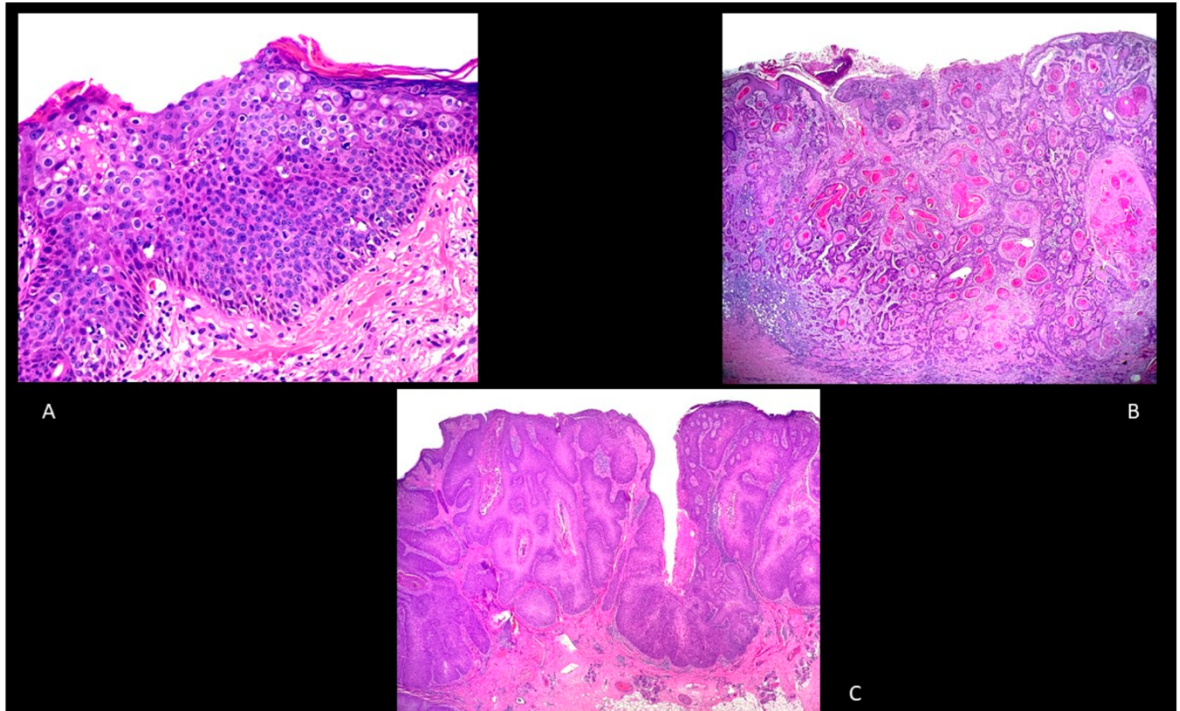


Figura 3: a) Malattia di Bowen: ematossilina-eosina, 100X; b) carcinoma cellulare squamoso invasivo, ben differenziato, ematossilina-eosina, 20X; c) carcinoma squamoso verrucoso, ematossilina-eosina, 20X. (Fania L. et al., 2021).

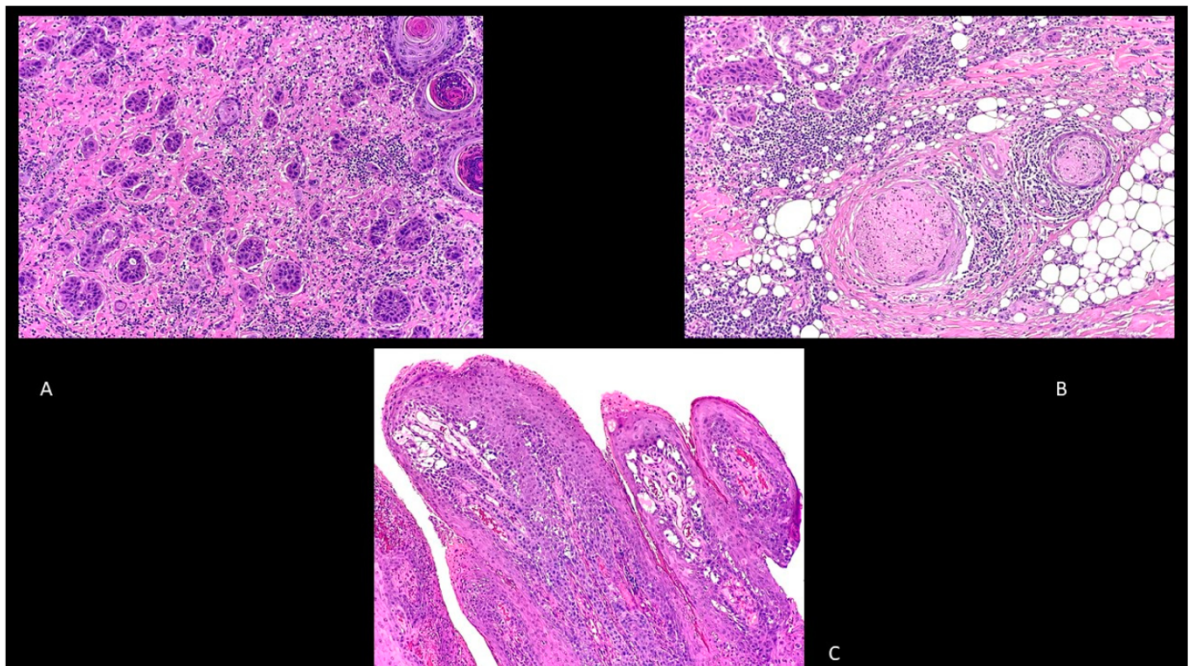


Figura 4: a) carcinoma cellulare adenosquamoso, ematossilina-eosina, 200X; b) cSCC perineurale, ematossilina-eosina, 100X; carcinoma squamoso papillare, ematossilina-eosina, 40X. (Fania L. et al., 2021).



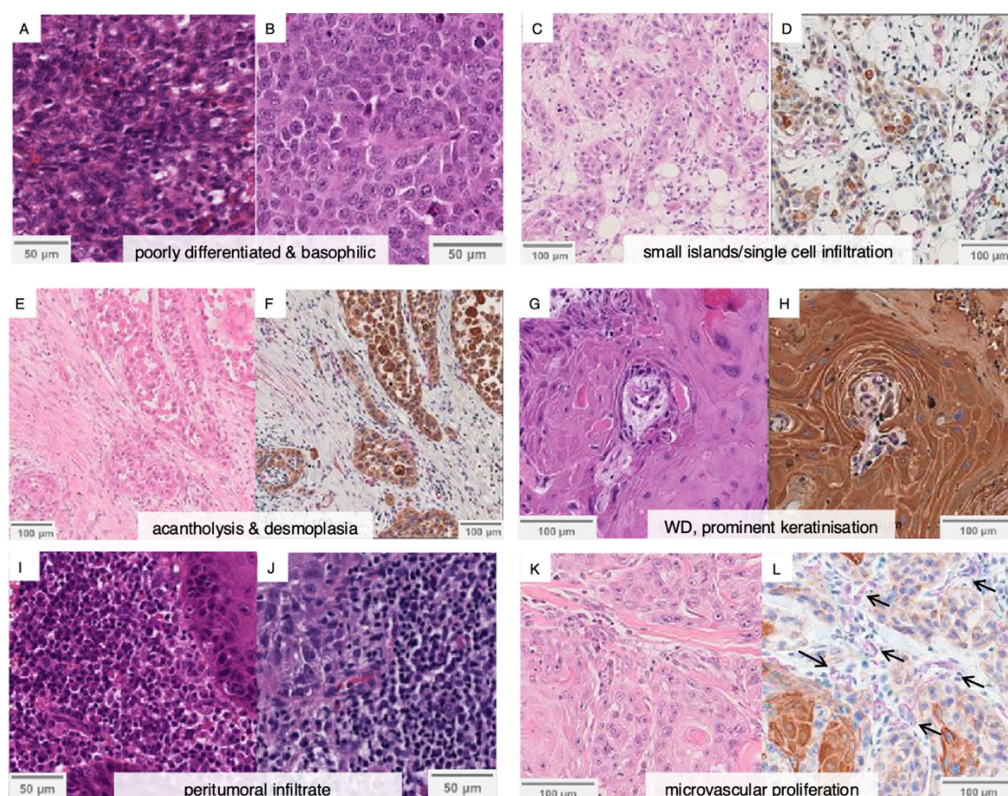


Figura 5: a) e b) carcinoma scarsamente differenziato con colorazione basofila, nuclei di grandi dimensioni e scarso citoplasma (ematossilina-eosina); c) e d) carcinoma scarsamente differenziato composto da piccole isole e filamenti infiltrativi (ematossilina-eosina; immunoistochimica IHC); e) e f) carcinoma acantolitico con pattern di invasione discoesiva e desmoplasia (ematossilina-eosina, immunoistochimica IHC); g) e h) aree rappresentative cSCC a basso rischio, cSCC ben differenziato e prominente cheratinizzazione (ematossilina-eosina, immunoistochimica IHC), i) e j) aree con denso infiltrato peritumorale (ematossilina-eosina); k) e l) aree con proliferazione microvascolare (ematossilina-eosina, immunoistochimica IHC).

Nelle immagini immunoistochimiche, le cellule positive a AE1/AE3 (cheratinociti) sono colorate in marrone con colorazione DAB; le cellule positive a CD3 (linfociti T) sono colorate in verde, e cellule positive a  $\alpha$ SMA (fibroblasti associati al tumore, cellule stromali tumorali e cellule che circondano i vasi sanguigni) sono colorate in rosso. ( $\alpha$ SMA: alpha-actina del muscolo liscio). (Peleva E. et al., 2025).

## 1.2. Epidemiologia

Il cSCC rappresenta il 20% delle neoplasie cutanee e circa il 75% di tutti i decessi per tumore della pelle, escluso il melanoma. Il suo tasso di incidenza è in costante aumento, di circa il

36% tra il 1990 e il 2019, principalmente a causa dell'invecchiamento della popolazione e dell'attenzione rivolta allo screening per il tumore della pelle. (Fania L. et al., 2021) (Buruiană A. et al., 2024).

La frequenza della cSCC varia notevolmente a seconda della posizione geografica, con tassi più elevati alle latitudini più basse e una possibilità di durata nel corso della vita del 9% e 14% tra gli uomini e 4% e 9% tra le donne. (Halim A.S. and Ramasenderan N., 2022).

Negli Stati Uniti, il rischio di sviluppare un cSCC nel corso della vita è stimato tra il 9% e il 14% negli uomini e tra il 4% e il 9% nelle donne. Ogni anno negli Stati Uniti si stimano almeno 200.000-400.000 nuovi casi di cSCC e più di 3.000 persone affette da cSCC muoiono a causa della malattia. (Alam M. et al., 2018).

In Italia, non esistono dati unificati sull'incidenza dei tumori cutanei non melanoma, ma secondo le stime dei registri dei tumori italiani, nel 2018 sono stati diagnosticati circa 19.000 nuovi casi di cSCC. (Que S.K.T. et al., 2018).

### 1.3. Eziologia e patogenesi

Il cSCC origina da una proliferazione incontrollata di cheratinociti epidermici atipici ed è probabilmente il risultato di un processo di displasia intraepidermica di lunga durata. È noto, infatti, che lo sviluppo del tumore è un processo graduale con diverse fasi istologiche e patologiche definite lungo la sua evoluzione maligna, dalla cheratosi attinica (AK) al cSCC invasivo. (Fania L. et al., 2021).

Può svilupparsi su qualsiasi superficie cutanea, in particolare testa, collo, dorso di braccia e mani, negli individui dalla pelle chiara, che sono a più alto rischio. (Alam M. et al., 2018).

Il cSCC è prevalente nella popolazione anziana: nell'80% dei casi si osservano persone di età superiore ai 60 anni, con frequenza più elevata negli uomini rispetto alle donne, data l'associazione con l'esposizione cumulativa al sole (incluse esposizioni professionali e nel tempo libero). (Fania L. et al., 2021).

L'eziologia del cSCC è multifattoriale e comprende fattori ambientali, immunologici e genetici.

Il principale fattore di rischio è l'esposizione cronica ai raggi UV, che svolge un ruolo fondamentale nella sua patogenesi. I raggi UV possono causare danni al DNA e inattivazione di oncosoppressori come il p53, portando a una proliferazione clonale e alla formazione di cheratosi attiniche. (Kennedy C. et al., 2003).

Inoltre, l'incidenza del cSCC è maggiore nei pazienti affetti da alcune genodermatosi ed in presenza di infiammazione cronica, come in caso di ferite croniche, ustioni, cicatrici e ulcere degli arti inferiori (Green A.C. and Olsen C.M., 2017).

Un altro significativo fattore di rischio per il cSCC è l'immunosoppressione, che può favorire lo sviluppo e la progressione della malattia a causa della minore sorveglianza immunitaria nei confronti del tumore o del virus HPV. È noto che il virus HPV, attraverso le sue proteine virali E6 ed E7, collabora con il danno da esposizione solare nella patogenesi delle AK e del cSCC (Viarisio D. et al., 2011).

Inoltre, si stima che i pazienti sottoposti a trapianto di organo abbiano un rischio di sviluppare il cSCC da 65 fino a 250 volte superiore rispetto alla popolazione generale (Cheng J.Y. et al., 2018).

I trattamenti farmacologici con monoterapia con inibitore di BRAF presentano un rischio più elevato di sviluppo di cSCC rispetto agli inibitori combinati di BRAF/proteina chinasi attivata da mitogeni (MEK). Inoltre, una storia pregressa di cSCC rappresenta un fattore di rischio per ulteriori tumori cutanei, inclusi altri NMSC e melanoma. Infine, alcune condizioni genetiche possono predisporre allo sviluppo di cSCC, come l'epidermolisi bollosa distrofica recessiva, l'albinismo, lo xeroderma pigmentoso, l'anemia di Fanconi e la sindrome di Lynch/sindrome di Muir-Torre. (Fania L. et al., 2021).

Il cSCC comporta un carico mutazionale elevato, che comprende diverse vie di segnalazione: attivazione del percorso NF-kB, MAPK e PI3K/AKT/mTOR che media la sovraespressione del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR), modifiche genetiche ai geni soppressori quali p53, CDKN2A e NOTCH e agli oncogeni (RAS). (Halim A.S. and Ramasenderan N., 2022).

Una complessa rete di vie di segnalazione deregolate svolge un ruolo importante nella patogenesi del cSCC. Le lesioni da cheratosi attinica e cSCC derivano da un processo multistadio, che coinvolge mutazioni nei geni implicati nell'omeostasi epidermica, promuovendo la proliferazione incontrollata di cheratinociti atipici. Tuttavia, mutazioni simili si possono riscontrare anche nei cheratinociti normali, principalmente nella pelle cronicamente esposta al sole. Pertanto, altri fattori, tra cui modifiche epigenetiche, infezioni virali o cambiamenti microambientali, possono favorire lo sviluppo e la progressione del cSCC.

Il cSCC è uno dei tumori con il più alto tasso di mutazioni. I geni mutati più comuni appartengono a pathway coinvolti nella regolazione del ciclo cellulare, nell'apoptosi, nella senescenza, nella differenziazione e nella segnalazione mitogenica.

Il gene più frequentemente alterato nel cSCC è TP53, che codifica per la proteina oncosoppressore p53, un fattore di trascrizione che svolge un ruolo importante nel mantenimento della stabilità genomica. A seguito di diversi stress cellulari, p53 regola l'espressione dei suoi geni bersaglio e quindi induce l'arresto del ciclo cellulare, l'apoptosi, la senescenza, la riparazione del DNA o cambiamenti nel metabolismo.

L'inattivazione di p53 nel cSCC è dovuta principalmente a mutazioni genetiche o interazioni con proteine virali come HPV E6. (Di Nardo L. et al., 2020).

Un'altra modificazione osservata è il gene CDKN2A, che coinvolge il percorso pRb.

CDKN2A, codifica due proteine, p16INK4a e p14ARF, che inibiscono la progressione del ciclo cellulare e la proliferazione attraverso i percorsi del retinoblastoma (pRb) e p53, rispettivamente.

L'inattivazione di CDKN2A può essere dovuta alla perdita di eterozigosi, mutazioni puntiformi e ipermetilazione del promotore, e porta a un ciclo cellulare incontrollato e a una crescita cellulare incontrollata (Brown V.L. et al., 2004).

Il gene NOTCH1 è un bersaglio diretto di p53 ed è coinvolto nell'uscita dal ciclo cellulare e nella differenziazione dei cheratinociti.

Le alterazioni più comuni della segnalazione di Notch sono mutazioni inattivanti, aberrazioni del numero di copie e perdita di eterozigosi, che portano alla perdita di funzione. Pertanto, Notch è considerato una famiglia di soppressori tumorali. La perdita di funzione di NOTCH1 può anche sovraregolare la via di segnalazione Wnt/beta-catenina, promuovendo lo sviluppo tumorale (Lefort K. et al., 2007).

La proteina p63 fa parte della famiglia di fattori di trascrizione p53; queste proteine sono caratterizzate da una struttura genica conservata e da un'elevata omologia di sequenza. p63 è espresso nello strato basale dove reprime l'espressione di p21 e HES1 (un membro del percorso Notch), supportando così la proliferazione dei cheratinociti.

Un'espressione alterata di p63 porta allo sviluppo di cSCC attraverso l'interruzione di numerose reti molecolari coinvolte nella regolazione della proliferazione, della differenziazione, della senescenza, dell'adesione cellulare, della migrazione e dell'invasione. (Sen G.L. et al., 2012).

Il gene EGFR codifica una glicoproteina transmembrana della famiglia ErbB dei recettori tirosin-chinasici (RTK).

In particolare, l'attivazione dell'EGFR riduce l'espressione di p53 e, a sua volta, di NOTCH1. (Nicholson R. et al., 2001).

Le mutazioni in cSCC sono state trovate principalmente nel gene HRAS. Ciò potrebbe essere dovuto all'attivazione della MAPK nei cheratinociti. (Su F. et al., 2012).

Le alterazioni geniche di PTEN, tra cui mutazioni inattivanti e perdita di funzione omozigote, sono state riscontrate nel 7-25% dei cSCC (Inman G.J. et al., 2018). (Figura 6).

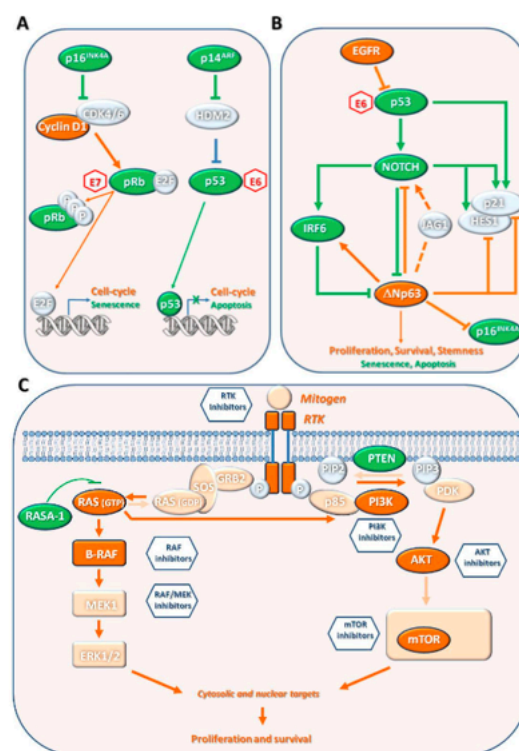


Figura 6: Vie metaboliche coinvolte nella patogenesi di cSCC: a) I geni oncosoppressori p16 e p14 controllano rispettivamente le via di trascrizione di pRb e di p53. b) L'attivazione aberrante di EGF-R, l'inattivazione di p53 e le mutazioni del gene NOTCH, inattivano la via di segnalazione NOTCH stessa. c) Le vie RAS-RAF-MEK-ERK e PI3K/AKT/mTOR sono



attivate da mutazioni di RAS, presente nei cheratinociti della pelle danneggiata da esposizione solare cronica. (Fania L. et al., 2021).

I fattori ambientali possono anch'essi alterare lo stato epigenetico delle cellule. L'epigenetica consiste in meccanismi molecolari che regolano l'espressione genica senza modificare la sequenza del DNA. Le alterazioni epigenetiche includono la metilazione del DNA e le modificazioni istoniche (metilazione, acetilazione, fosforilazione, ubiquitinazione e rimodellamento della cromatina).

È stata segnalata un'associazione tra cSCC e ipermetilazione del promotore gene-specifico. Nello specifico, si tratta di geni coinvolti nel ciclo cellulare, regolazione positiva dell'apoptosi, segnalazione Wnt e molecole di adesione.

Diversi tipi di modificazioni istoniche sono catalizzate da diverse famiglie di enzimi. Le modificazioni più caratterizzate sono l'acetilazione e la metilazione degli istoni H3 e H4, che alterano direttamente la condensazione della cromatina e la trascrizione genica. (Chiles M.C. et al., 2003).

Un altro meccanismo che possiamo osservare come causa di cSCC è l'esposizione al virus HPV, un virus a DNA a doppio filamento che infetta gli epiteli squamosi. Il meccanismo di oncogenesi da HPV si basa sulle proteine virali E6 ed E7. E6 ed E7 legano rispettivamente p53 e RB1 e ne promuovono la degradazione proteasomale, portando alla perdita di geni oncosoppressori e a una proliferazione incontrollata (Tampa M. et al., 2020).

Il microambiente tumorale (TME) dei tumori solidi è un sistema complesso di molecole, incluse citochine, fattori di crescita e metalloproteinasi, e una popolazione eterogenea di cellule comprendente cellule tumorali e cellule stromali vicine come fibroblasti, cellule endoteliali e diverse cellule infiammatorie e immunitarie. Le cellule residenti nel TME acquisiscono specifici fenotipi e funzioni pro-tumorigeniche.

Il TME è importante nella carcinogenesi del cSCC, che emerge dall'interazione dei cheratinociti neoplastici nascenti con altri tipi di cellule stromali ospitati nel microambiente locale. L'infiammazione agisce come promotore del tumore e modifica queste interazioni cellula-cellula attraverso la riprogrammazione epigenetica, danneggiando il DNA, promuovendo l'ipossia e l'angiogenesi, attivando i fibroblasti associati al cancro (CAF), reclutando cellule immunitarie regolatrici e inibendo la sorveglianza immunitaria antitumorale.

Questo sistema di rete dinamico stimola la crescita, la migrazione e l'invasione del tumore. (Sasaki K. et al., 2018) (Figure 7, 8).

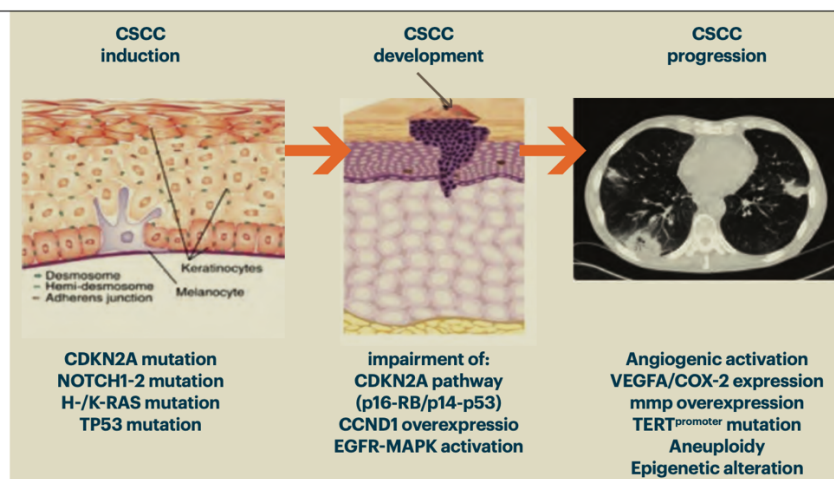


Figura 7: Principali alterazioni di geni e pathway molecolari coinvolti nelle diverse fasi della malattia. (Libro bianco AIMAME).

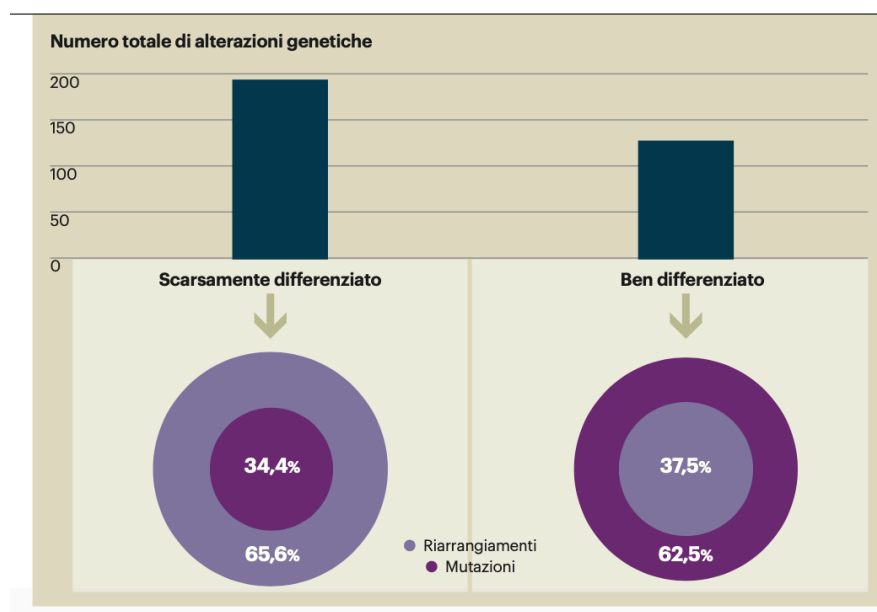


Figura 8: Assetti molecolari nel cSCC moderatamente o scarsamente differenziato e cSCC ben differenziato in rapporto alla tipologia di alterazione: riarrangiamenti genomici (CNV, copy number variation; Gain/Loss of gene loci; LOH, Loss of heterozygosity) vs. mutazioni puntiformi a carico delle regioni codificanti e/o regolatrici di specifici geni coinvolti patogenicamente (driver) nella tumorigenesi del cSCC. (Libro Bianco AIMAME).

#### 1.4. Stadiazione e fattori prognostici

I fattori prognostici clinici riguardano i fattori correlati al tumore, istopatologici, e i fattori correlati al paziente.

I fattori correlati al paziente corrispondono prevalentemente ai fattori di rischio descritti precedentemente: immunosoppressione, trapianto di organi, neoplasie ematologiche, trattamento immunosoppressore cronico, in particolare ciclosporina e azatioprina, soprattutto dopo l'esposizione ai raggi UV e quelli positivi all'HIV; ustioni e lesioni precedenti; genodermatosi; malattie ereditarie. (Cañueto J. et al., 2020).

I fattori prognostici istopatologici principali sono spessore e profondità di invasione del tumore, grado di differenziazione cellulare, coinvolgimento dei margini chirurgici, invasione perineurale, ulcerazione, reazione linfocitaria peritumorale e altri marker istologici. (Tabella 3). (Allegato 7.2.).

|                                   | Low Risk                   | High Risk                         |
|-----------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| <i>Clinical Features</i>          |                            |                                   |
| Size                              | <20 mm                     | <20 mm                            |
| Site                              | Outside the H/zone         | Ear, lower lip, temple            |
| Primary/recurrent                 | Primary                    | Recurrent                         |
| Borders                           | Well-defined               | Poorly-defined                    |
| Immune status                     | Immunocompetent            | Immunosuppressed                  |
| Growth rate                       | Slow                       | Rapid                             |
| Associated clinical features      | Asymptomatic               | Pain, paresthesia                 |
| <i>Histopathological features</i> |                            |                                   |
| Thickness                         | <6 mm                      | >6 mm                             |
| Depth of invasion                 | Dermis                     | Beyond fatty tissue               |
| Degree of differentiation         | Good-moderate              | Poor                              |
| Perineural invasion               | No                         | Yes (nerves 0.1 mm or more, deep) |
| Histologic subtype                | Verrucous, keratoacanthoma | Desmoplastic, adenosquamous       |

Tabella 3: Fattori prognostici in cSCC: a basso rischio e ad alto rischio. (Cañueto J. Et al., 2020).

##### 1.4.1. Spessore e profondità di invasione

Lo spessore è stato correlato alla prognosi del cSCC ed è stato addirittura identificato come il fattore predittivo più importante per le metastasi.

La probabilità di metastasi è quasi inesistente se lo spessore del tumore è inferiore a 2 mm, circa il 6% nei tumori da 2 a 6 mm e il 16% in quelli con spessore superiore a 6 mm. (Brantsch K.D. et al., 2008).

Lo spessore deve essere misurato dallo strato granuloso della pelle normale adiacente al tumore fino all'ultima cellula invasiva. Questo approccio può risultare difficoltoso quando si misura lo spessore delle lesioni esofitiche. (Amin M.B. et al., 2017).

Un altro fattore prognostico è l'invasione del tumore oltre il grasso sottocutaneo.

La presenza di tale invasione è stata associata a un rischio di recidiva 7 volte maggiore e a un rischio di metastasi 11 volte maggiore. Tuttavia, sotto alcuni aspetti, la valutazione dell'invasione oltre il tessuto adiposo può essere più utile rispetto alla profondità del tumore. Da un lato, è utile nella chirurgia micrografica di Mohs, che valuta i tagli orizzontali nel pezzo chirurgico, nei quali non è possibile valutare lo spessore del tumore in millimetri. Inoltre, vengono ovviate le difficoltà legate alla valutazione della profondità del tumore nelle lesioni esofitiche e, inoltre, questa valutazione può giustificare la prognosi sfavorevole di alcune lesioni che invadono il muscolo pur avendo uno spessore moderato. (Cañueto J. et al., 2020).

Talvolta, viene usato come sistema di valutazione della profondità di invasione del cSCC, il livello di Clark, utilizzato spesso per i melanomi cutanei.

Fornisce una indicazione della sede anatomica raggiunta dal tumore, classificando l'invasione del tumore in base al piano anatomico della cute raggiunto dalle cellule neoplastiche, indipendentemente dallo spessore in mm:

- Livello I: tumore confinato all'epidermide (in situ);
- Livello II: invasione nel derma papillare (strato superficiale del derma);
- Livello III: invasione dell'intero derma papillare;
- Livello IV: invasione del derma reticolare;
- Livello V: invasione del tessuto sottocutaneo;

Nei tumori cutanei, livelli di Clark più elevati corrispondono ad una prognosi peggiore.

Questo modello presenta però dei limiti, come l'elevata variabilità tra osservatori (dipende da come il patologo interpreta i confini dermici), inoltre attualmente viene usato il modello di Breslow thickness (spessore in mm del tumore), considerato più affidabile. (Morton D.L. et al., 1993).

#### 1.4.2. Grado di differenziazione cellulare

Il grado di differenziazione cellulare si differenzia in:

- Gx: se il grado di differenziazione non è valutabile;
- G1: neoplasia ben differenziata, tendono a mostrare una crescita più lenta e meno aggressiva;
- G2: moderatamente differenziata;
- G3: scarsamente differenziata; si associa a un rischio maggiore di recidiva e metastasi linfonodali
- G4: totalmente indifferenziata;

Nella forma ben differenziata l'aspetto squamoso è ben evidente con abbondante formazione di cheratina, ponti inter-citoplasmatici, minimo polimorfismo e mitosi prevalentemente basali.

Nella forma moderatamente differenziata minore cheratinizzazione, maggiore polimorfismo e mitosi con mitosi atipiche. Nella forma scarsamente differenziata è difficile stabilire con certezza l'origine epidermoide con rari e piccoli focolai di cheratinizzazione e ponti inter-citoplasmatici, numerose mitosi a disposizione irregolare. (Stratigos A.J. et al., 2023).

Diversi studi hanno evidenziato come una scarsa differenziazione sia associata a una prognosi sfavorevole del cSCC.

La differenziazione è stata associata ad un rischio 3 volte maggiore di recidiva locale e ad un rischio 5 volte maggiore di metastasi, così come una recidiva precoce. (Thompson A.K. et al., 2016).

#### 1.4.3. Coinvolgimento dei margini chirurgici

Il margine chirurgico rappresenta il tessuto sano che circonda la neoplasia asportata.

Se i margini sono indenni (liberi o negativi), non si osserva nessuna cellula tumorale a contatto con il margine e la resezione è definita completa.

Se il margine è definito positivo o coinvolto, si osservano cellule tumorali visibili a contatto con il margine e la resezione non è completa.

I margini vicini indicano che le cellule tumorali non raggiungono il margine, ma è spesso definito sotto una certa distanza, secondo linee guida ben precise.

Numerosi studi hanno dimostrato che i margini positivi si associano a un aumentato rischio di recidiva e una riduzione della sopravvivenza. (Lubov J. et al., 2021).

In alcuni studi, anche i margini vicini sono correlati a un maggior rischio di recidiva, soprattutto se in presenza di altri fattori di prognosi sfavorevole. (Verdaguer-Faja J. et al., 2025).

#### 1.4.4. Invasione perineurale

La PNI è presente nel 2,5%-10% dei cSCC ed è associata ad altre caratteristiche istopatologiche di prognosi sfavorevole.

Gli studi hanno costantemente riconosciuto il suo impatto su una prognosi sfavorevole ed è stato associato a un rischio di recidiva 4 volte maggiore e a un rischio di metastasi 5 volte maggiore.

Più recentemente, è stato stabilito che la PNI dovrebbe essere considerata ad alto rischio quando sono coinvolti i nervi con un calibro  $\geq 0,1$  mm. Inoltre, l'infiltrazione dei nervi profondi (situata sotto il derma) e l'infiltrazione estesa dei nervi sono considerate caratteristiche dell'infiltrazione dei nervi associate anche a una prognosi sfavorevole. È necessario distinguere tra PNI e disseminazione perineurale. Il primo corrisponde alla rilevazione istologica, mentre il secondo, per definizione, è uno stadio più avanzato che può essere rilevato clinicamente e radiologicamente e rappresenta la via di invasione del sistema nervoso centrale da parte del tumore. (Cañueto J. et al., 2018).

#### 1.4.5. Ulcerazione

L'ulcerazione è un parametro macroscopico e microscopico che riflette un comportamento aggressivo del tumore.

È definito istologicamente come l'assenza di epidermide intatta sovrastante una porzione significativa del tumore.

Recenti studi hanno dimostrato che l'incidenza di ulcerazione aumenta di pari passo all'aumentare dello spessore del tumore cutaneo primitivo, e che tale parametro è in grado di influenzare negativamente la sopravvivenza indipendentemente dallo spessore di esso. (Savoia P., 2008).

#### 1.4.6. Reazione linfocitaria peritumorale

Indica il grado di infiltrato linfocitario peri- o intratumorale, che riflette la risposta immunitaria del paziente.

La risposta può essere intensa, quindi favorevole poiché suggerisce un'attiva sorveglianza immunitaria contro il tumore.

Al contrario, l'assenza o la scarsa reazione linfocitaria è associata a prognosi sfavorevole. (Jowkar F. et al., 2023).

#### 1.4.7. Altri marker istologici di prognosi

Altri fattori di rischio istopatologici nel cSCC sono:

-Dimensione radiale massima: corrisponde al diametro maggiore del tumore lungo la superficie cutanea.

I tumori con diametro >2 sono considerati ad alto rischio per l'aumentata probabilità di recidiva e metastasi.

-Margini di accrescimento: la modalità di crescita del carcinoma squamoso cutaneo può essere espansiva, quando la massa cresce compatta e con margini netti; o infiltrativa, quando le cellule tumorali diffondono nel tessuto circostante.

Quest'ultima è associata a un maggior rischio di recidiva e alla formazione di metastasi. (Peleva E. et al., 2025).

-Invasione linfovaskolare: indica la presenza di cellule tumorali nei vasi linfatici o vascolari intorno o all'interno del tumore.

Risulta essere un fattore indipendente di sopravvivenza, ma in alcuni casi i tumori con un livello di invasione linfovaskolare più alto, mostrano tassi più elevati di metastasi. (Kylee J.B. Kus et al., 2022).

-Modello di crescita infiltrativo: descrive il modo in cui il tumore si espande nei tessuti circostanti.

Se infiltrativo le cellule tumorali si espandono in cordoni sottili, nidi, trabecole o singole cellule che si insinuano nel tessuto dermico.

Se contrapposto al modello esofitico o espansivo: il tumore cresce verso l'esterno come una massa compatta e ben delimitata.

Nel modello infiltrativo i limiti tumorali non sono definiti (rendendo più difficoltosa la chirurgia di Mohs), si può osservare una infiltrazione del tessuto adiposo o muscolare e spesso viene associato ad angioinvasione, invasione perineurale e scarsa differenziazione.

Questo modello è un fattore di alto rischio di recidiva, a causa dei margini difficili da definire, rischio di metastasi, se associato a invasione linfovaskolare e perineurale. (Jennings L. and Schmults C.D., 2010).

-Desmoplasia: è una risposta fibrotica dello stroma a un tumore invasivo, definito come almeno il 30% dello stroma desmoplastico associato al tumore.

Le cellule tumorali stimolano la produzione di collagene e fibroblasti nello stroma circostante, portando ad un tessuto duro e fibroso.

È associata a tumori infiltrativi, come il cSCC desmoplastico. (Jambusaria-Pahlajani A. et al., 2020).

Inoltre, una prognosi peggiore è stata associata ad alcune varianti istopatologiche del cSCC, in particolare il cSCC acantolitico e cSCC adenosquamoso.

Alcuni marcatori, come l'EGFR, D2-40 e marcatori di transizione epitelio-mesenchimale sono stati associati a una prognosi sfavorevole nel cSCC. Recentemente, anche l'espressione

di PD-L1 è stata associata a un rischio più elevato di metastasi linfonodali. (Cañueto J. et al., 2020).

La stadiazione si basa sul sistema TNM (Tumore, Linfonodi, Metastasi). (Tabella 4).

- Stadio pT1: tumore < 2cm di diametro massimo, senza caratteristiche ad alto rischio;
- Stadio pT2: tumore > 2 cm o con 1 fattore di alto rischio (differenziazione scarsa, margini infiltrativi, invasione perineurale, profondità di invasione...)
- Stadio pT3: tumore con > 2 fattori di alto rischio o invasione ossea, cartilagine o nervi;
- Stadio pT4: tumore che invade strutture profonde;

-N0: nessuna metastasi linfonodale;

-N1: 1 linfonodo coinvolto < 3 cm;

-N2: linfonodi multipli o > 3 cm;

-N3: linfonodi > 6 cm;

-M0: assenti

-M1: presenti;

| UICC                                                                                             | AJCC                                                                                                            | BWH <sup>a</sup>                        | Breuninger                                                                                                                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| cT Primary tumour                                                                                | cT Primary tumor                                                                                                | T1 0 High-risk factors                  | cT: Tumour size (clinical; two classes)<br>Low risk ≤2 cm                                                                 |
| TX Primary tumour cannot be assessed                                                             | T1 ≤2 cm in greatest diameter                                                                                   | T2a 1 High-risk factor                  | High risk >2 cm                                                                                                           |
| T0 no evidence of primary tumour                                                                 | T2 >2 cm and ≤4 cm in greatest diameter                                                                         | T2b 2-3 High-risk factors               | pT: Tumour thickness (histological) (three classes) Rates of metastasis<br>No risk ≤2 mm                                  |
| Tis Carcinoma in situ                                                                            | T3 Tumor ≥4 cm in greatest diameter or minor bone invasion or perineural invasion or deep invasion <sup>c</sup> | T3 4 High-risk factors or bone invasion | Low risk >2-6 mm                                                                                                          |
| T1 Tumour ≤2 cm in greatest dimension                                                            | T4a Tumour with gross cortical bone and/or marrow invasion                                                      |                                         | High risk >6 mm                                                                                                           |
| T2 Tumour >2 cm and ≤4 cm in greatest dimension                                                  | T4b Tumour with skull bone invasion and/or skull base foramen involvement                                       |                                         | Higher risk of metastasis:<br>1. Immunosuppression<br>2. Desmoplastic type or poor differentiation<br>3. Localization ear |
| T3 Tumour >4 cm in greatest dimension or minor bone erosion or PNI or deep invasion <sup>b</sup> |                                                                                                                 |                                         |                                                                                                                           |
| T4a Tumour with gross cortical /marrow invasion                                                  |                                                                                                                 |                                         |                                                                                                                           |
| T4b Tumour with axial skeleton/skull base/foraminal involvement                                  |                                                                                                                 |                                         |                                                                                                                           |

Tabella 4: Confronto tra le classificazioni e linee guide (Stratigos A.J. et al., 2023).

Le linee guida europee propongono alcuni fattori di rischio per evidenziare le lesioni in cui è più probabile lo sviluppo di recidive locali o di metastasi linfonodali:

- Diametro > 20 mm;
- Profondità > 6 mm o invasione nello strato sottocutaneo;
- Localizzazione ad alto rischio: tempia, orecchio o labbra;
- Spessore di infiltrazione > 6 mm o fino al tessuto adiposo sottocutaneo;



- Lesione scarsamente differenziata;
- Lesione desmoplastica;
- Invasione perineurale sintomatica o evidenziabile a livello microscopico o radiologico;
- Erosione ossea;
- Immunosoppressione;
- Margini chirurgici positivi;

L'algoritmo proposto per la stadiazione dalle più recenti linee guida europee è riportato in figura 9.

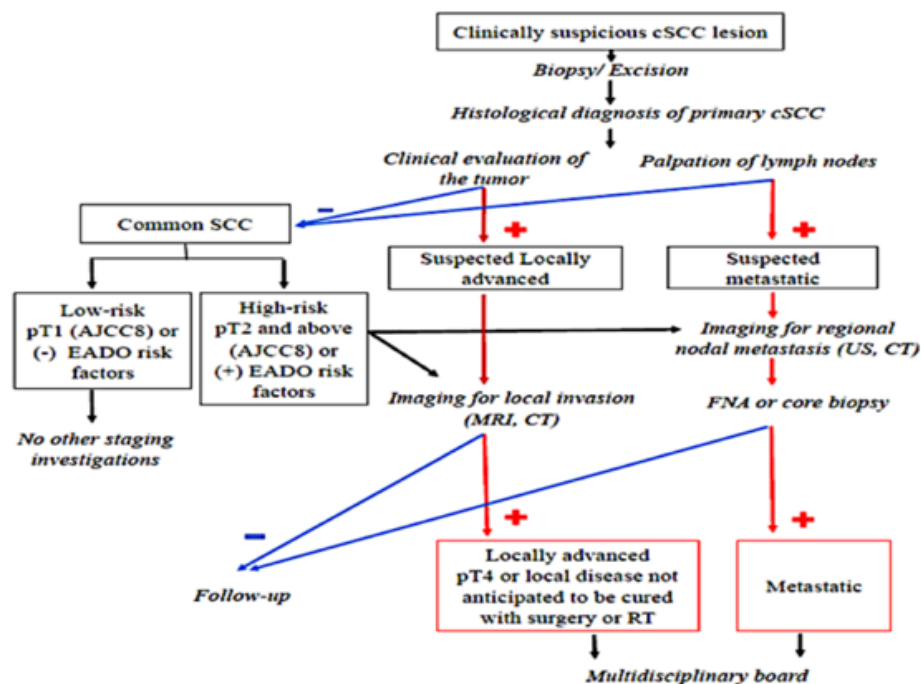


Figura 9: Algoritmo diagnostico-terapeutico (Stratigos A.J. et al., 2023).

### 1.5. Diagnosi

La diagnosi del cSCC si basa su un approccio che comprende valutazione clinica, tecniche dermatoscopiche e la conferma istopatologica mediante biopsia.

Nella valutazione clinica vengono valutate le caratteristiche morfologiche della lesione sospetta, considerando ulcerazioni, infiltrazioni, crescita rapida, sanguinamento spontaneo e presenza di dolore. Inoltre, si considerano con maggiore attenzione le aree ad alto rischio,

quali labbro, orecchio, regioni foto esposte, cute cronicamente danneggiata o sede di pregressi traumi o cicatrici.

Lo step successivo come utile supporto diagnostico è la dermatoscopia, che consente l'identificazione di strutture caratteristiche del cSCC, tra cui accumuli di cheratina e vasi atipici. Non sostituisce l'esame istologico ma permette di orientare la scelta del prelievo bioptico.

Fase successiva è infatti la biopsia e la conferma istologica, che permette di ottenere la diagnosi definitiva; si effettua un esame istopatologico di un campione bioptico, e quando è necessaria tecniche immunoistochimiche.

La tecnica del prelievo varia in base alle dimensioni e alla localizzazione della lesione:

- Biopsia escissionale: per lesioni di piccole dimensioni, poiché consente l'asportazione completa della neoplasia;

- Biopsia incisionale o punch: indicata per lesioni estese o localizzate in aree in cui un'escissione immediata risulterebbe difficoltosa.

Nei casi classificati come ad alto rischio è opportuno ricorrere ad indagini di imaging: tecniche come ecografia linfonodale, tomografia computerizzata (TC), risonanza magnetica (RM), o PET/TC sono utili per identificare metastasi linfonodali o a distanza, e definire l'estensione locale del tumore.

È utile la stadiazione, infine, per la conferma della diagnosi e la scelta del trattamento più efficace, l'identificazione di elementi quali dimensioni superiori a 2 cm, localizzazione su labbro o orecchio, invasione oltre il tessuto adiposo sottocutaneo, recidive, scarsa differenziazione istologica, invasione perineurale e immunosoppressione, che portano ad una prognosi sfavorevole e un trattamento più aggressivo.

Una diagnosi presuntiva di cSCC si basa sull'interpretazione da parte del medico delle informazioni cliniche, tra cui aspetto e morfologia, localizzazione anatomica e anamnesi riferita dal paziente. Quando il medico invia il tessuto bioptico per la diagnosi istopatologica, e quando possibile e appropriato, è necessario fornire al patologo elementi chiave relativi alle caratteristiche demografiche, alla presentazione clinica e all'anamnesi del paziente. (Alam M. et al., 2018), (Tabella 5).

- Clinical information provided to pathologist
- Strongly recommended
    - Age
    - Sex
    - Anatomic location
    - Recurrent lesion
  - Recommended
    - Size of lesion
    - Immunosuppression
    - History (especially radiation, burn, organ transplant)
- Elements to be included in final pathology report (excision specimens)
- Strongly recommended
    - Degree of differentiation\*
    - Presence of aggressive histologic subtype<sup>†</sup>
    - Depth of invasion, mm
    - Clark level of invasion
    - Perineural invasion
    - Lymphovascular invasion
    - Invasion of fascia, muscle, or bone
    - Number of high-risk features<sup>‡</sup>
    - Margin status
    - TNM stage (AJCC)
  - Recommended
    - Inflammation
    - Infiltrative strands, single cells, small nests
    - Diameter of largest involved nerve

Tabella 5: Informazioni cliniche e patologiche da osservare per un sospetto cSCC. (Alam M. et al., 2018).

Questi includono l'età del paziente e il sesso biologico, la localizzazione anatomica del tumore, e qualsiasi storia di trattamento nello stesso sito anatomico. Ulteriori informazioni pertinenti possono includere la dimensione clinica della lesione e se il paziente presenta attualmente o ha presentato in passato ulteriori fattori di rischio, come immunosoppressione, radioterapia o trapianto di organo solido.

Lo scopo principale del referto istologico della biopsia è fornire al medico una diagnosi accurata della presenza (o assenza) di cSCC. In caso di rilevamento di cSCC, vengono riportate ulteriori caratteristiche, tra cui il grado di differenziazione e qualsiasi caratteristica che possa classificare la lesione come ad alto rischio, inclusi sottotipi istologici aggressivi (acantolitico, adenosquamoso e carcinosarcomatoso), profondità superiore a 2 mm (misurata a partire dallo strato granulare del tessuto adiacente), livello di Clark IV o superiore e presenza di invasione perineurale e/o angiolinfatica.

Per i campioni escissivi, l'entità dei dettagli riportati dipende dal fatto che si tratti di una biopsia escissionale primaria o di una nuova escissione di un tumore confermato da biopsia. È necessario annotare eventuali nuovi riscontri prognosticamente rilevanti.

La valutazione patologica dei campioni bioptici cutanei è idealmente eseguita da un dermatologo o un patologo esperto nell'interpretazione delle neoplasie cutanee. Tale medico è in grado di interpretare congiuntamente i reperti clinici del tumore e le caratteristiche istologiche (ovvero, la correlazione clinico-patologica) per fornire la diagnosi bioptica più precisa e accurata. (Alam M. et al., 2018).

La dermatoscopia, conosciuta anche come microscopia ad epiluminescenza, è una tecnica diagnostica veloce e affidabile che viene ampiamente utilizzata nella dermatologia per la diagnosi in vivo dei tumori cutanei sia melanocitici che non melanocitici.

Da un punto di vista fisico, la dermatoscopia viene condotta tramite uno strumento chiamato dermatoscopio. Questo strumento sfrutta la riduzione della riflessione della luce visibile (emessa da una sorgente di luce transilluminante) sulla superficie cutanea. In particolare, una lastra di vetro viene posta a contatto con lo strato corneo, e si utilizza un fluido di immersione come interfaccia (che può essere acqua, gel, olio o disinfettante) con un indice di rifrazione appropriato, oppure si utilizzano filtri polarizzati. Il dermatoscopio è dotato di lenti ingranditrici, che possono ingrandire le immagini da 10 a 20 volte, consentendo così l'osservazione di dettagli delle strutture cutanee superficiali, dall'epidermide al derma superficiale. Questo ingrandimento permette di visualizzare strutture che normalmente non sarebbero visibili a occhio nudo.

Le stesse immagini possono essere elaborate in formato digitale utilizzando uno strumento noto come videodermatoscopio, che può raggiungere ingrandimenti fino a 60 volte. Con questi dispositivi è possibile anche salvare e archiviare le immagini ottenute su un computer. La dermatoscopia identifica la distribuzione, i colori e le forme delle strutture presenti nel derma e nell'epidermide al fine di riconoscere le caratteristiche delle lesioni melanocitarie e non melanocitarie. La melanina appare di colore nero se si trova nello strato corneo, marrone se è presente nell'epidermide e nel derma superficiale, e grigio-blu se si trova nel derma; i vasi sanguigni appaiono di colore rosso, mentre la cheratina e il sebo appaiono di colore giallo, e il collagene e la fibrosi sono di colore bianco.

Una diagnosi accurata di lesioni cutanee dipende dalla capacità di identificare specifiche strutture tra quelle descritte e codificate nei pattern dermatoscopici. Nonostante l'esame istologico rimanga fondamentale per la diagnosi delle lesioni cutanee, la dermatoscopia rappresenta un metodo rapido, economico e non invasivo che consente di formulare un sospetto diagnostico con un elevato grado di certezza.

Le caratteristiche dermoscopiche sono le seguenti:

- Eritema privo di strutture riconoscibili;

- “Pseudonetwork” rosso (con aree biancastre tondeggianti corrispondenti agli sbocchi follicolari);
- Vasi puntiformi/glomerulari/a forcina/lineari irregolari;
- “Red starburst pattern”: vasi puntiformi e glomerulari allineati, disposti radialmente in periferia;
- Cerchi bianchi (follicolite);
- Rosette;
- Aree biancastre destrutturate;
- Squame opache gialle-marroni;
- Masse di cheratina;
- Erosioni/ulcerazioni.

Tali caratteristiche non risultano però essere specifiche, sono infatti presenti anche in proporzione variabile sia in AK che SCC. (Combalia A. et al. 2020).

Le tecniche biottiche raccomandate per il cSCC includono la biopsia punch, la biopsia shave e biopsia escissionale. La biopsia escissionale si distingue dall'escissione con margini in quanto l'intento della prima è quello di determinare e/o confermare la diagnosi, mentre l'intento della seconda è quello di rimuovere il tumore. Per tutte le tecniche, le dimensioni e la profondità del campione biottico sono fondamentali.

La selezione della tecnica biottica specifica dipende dalle caratteristiche cliniche del tumore sospetto, tra cui morfologia, sottotipo istologico e profondità attesi, storia naturale e sede anatomica; fattori specifici del paziente, come diatesi emorragica e di guarigione delle ferite; e preferenze del paziente e giudizio del medico.

Nello specifico, è probabile che le biopsie iniziali punch o shave possano rilevare le caratteristiche istologiche rilevanti per la stragrande maggioranza dei tumori cSCC campionati. Quando si sospetta una recidiva del tumore, un'invasione profonda o altre caratteristiche aggressive, potrebbero essere necessarie una resezione tissutale più estesa o biopsie esplorative multiple per rilevare queste caratteristiche se i metodi più superficiali non sono sufficienti. La necessità di ottenere informazioni tramite biopsia è controbilanciata dalle preferenze del paziente e del medico di ridurre al minimo il disagio associato alla biopsia, i traumi, il rischio di infezione o deiscenza della ferita, cicatrici o perdita di funzionalità, in particolare a livello di testa, collo e altre sedi vitali, funzionali, sensoriali o esteticamente sensibili. (Alam M. et al., 2018).

Infine, osserviamo per la conferma della diagnosi l'esame istologico standard, con colorazione ematossilina-eosina, e se necessaria immunoistochimica.

Le tecniche immunoistochimiche vengono utilizzate come approfondimento diagnostico in casi selezionati, in particolare nel cSCC per distinguerlo da altre neoplasie epiteliali o mesenchimali; caratterizzare tumori scarsamente differenziati, differenziare cSCC da metastasi di altri carcinomi e confermare differenziazione cheratinocitaria.

I markers immunoistochimici più utilizzati sono p40, per l'epitelio squamoso, CK5/6, citocheratine dell'epitelio squamoso, EMA, spesso positivo, S100 e SOX10 negativi, per escludere melanomi e Ber-EP4 negativo, per differenziare dal basalioma.

Come supporto alla lettura, archiviazione, second opinion e utilizzo di AI, lo strumento di Digital Pathology rappresenta un'evoluzione della diagnostica istopatologica tradizionale.

#### 1.5.1. Microscopio ottico e limiti dell'osservazione tradizionale

Il microscopio ottico rappresenta lo strumento principale utilizzato dal patologo per valutare l'architettura tumorale, il grado di differenziazione, l'invasione perineurale, la profondità di invasione e le caratteristiche citologiche e cheratinizzazione.

Nonostante la microscopia sia stata lo strumento principale del patologo, presenta dei limiti strutturali.

Il vetrino fisico, infatti, può essere osservato da una sola persona alla volta e la condivisione è difficoltosa, dovendolo spedire fisicamente da un laboratorio ad un altro con rischio di danneggiamento. Inoltre, il tempo può degradare le colorazioni, il campione e il vetrino stesso. (Weinstein R.S. et al., 2009).

Un'ulteriore criticità è rappresentata da limiti funzionali e qualitativi: la valutazione del campione è qualitativa e dipende dall'esperienza del patologo, quindi variabile tra operatori e difficilmente standardizzabile, le misurazioni quantitative (conta mitotica, densità cellulare...) sono più complicate e osserviamo una scarsa riproducibilità.

Il vetrino rappresenta un formato analogico, per cui ne conseguono un'approssimativa archiviazione, problemi nella ricerca dei casi e impossibilità di usare AI e algoritmi computazionali. (Madabhushi A. and Lee G., 2016).

Infine, sono presenti dei veri e propri limiti fisici di osservazione: ingrandimento limitato, campo visivo ristretto e necessità di presenza fisica del patologo in laboratorio.

### 1.5.2. Digital Pathology

La Digital Pathology (DP) rappresenta l'evoluzione digitale della pratica anatomo-patologica tradizionale e si fonda sulla digitalizzazione dei vetrini istologici attraverso sistemi di whole slide imaging (WSI). Questi strumenti acquisiscono immagini ad alta risoluzione dell'intero vetrino, sostituendo progressivamente l'osservazione al microscopio ottico con piattaforme digitali avanzate, comportando una trasformazione del workflow diagnostico, della gestione dei dati, della standardizzazione e del potenziale analitico. (Pell R. et al., 2019).

#### 1.5.2.1. Principi e tecnologie

La Digital Pathology nasce come strumento per migliorare accuratezza, riproducibilità e standardizzazione delle valutazioni patologiche, soprattutto in ambito di ricerca e studi clinici. L'evoluzione tecnologica ha portato all'integrazione dell'image analysis e, più recentemente, di tecniche di deep learning (DL), capaci di estrarre informazioni morfologiche complesse, e di intelligenza artificiale (AI). (Pell R, et al., 2019).

L'introduzione della Digital Pathology nasce da tre pilastri tecnologici:

1. Scanner WSI (Whole Slide Images) ad alta capacità e automazione, in grado di produrre immagini a ingrandimenti di 20x-40x ottico, con precisione cromatica, messa a fuoco multilayer e correzione degli artefatti;
2. Infrastrutture IT dedicate, che comprendono sistemi di archiviazione (NAS, PACS), reti ad ampia banda, server, e standard DICOM per la patologia;
3. Software avanzati di visualizzazione e gestione del workflow, integrati con moduli di annotazione, strumenti di quantificazione automatica e applicazioni basate su machine learning integrazione di algoritmi AI. (Jahn S.W. et al., 2020).

Niazi M.K.K. et al. (2019) collocano la Digital Pathology all'interno della più ampia disciplina della computational pathology, che sfrutta algoritmi ML/DL per estrarre pattern morfologici complessi, inferire caratteristiche molecolari (ad es. *genotype-from-phenotype*), predire outcome clinici e sviluppare modelli prognostici e predittivi dalle immagini digitali e definiscono i workflow computazionali e le pipeline di analisi morfometrica su vasta scala.

I modelli deep learning di nuova generazione, incluse reti transformer e modelli autoregressivi multimodali, siano in grado di elaborare milioni di patch per WSI e supportare compiti complessi come la classificazione tumorale, la stima del rischio e la correlazione con espressioni geniche o firme trascrittomiche. (Zhang X. et al., 2024).

#### 1.5.2.2. Applicazioni pratiche

Nella diagnostica primaria, la DP permette la revisione simultanea dei casi tra patologi di diversi centri, riducendo tempi e costi, consentendo inoltre la riduzione del rischio di perdita e danneggiamento dei vetrini fisici. (Pell R. et al., 2019).

La condivisione digitale delle WSI consente second opinion rapide e affidabili senza la necessità di spedire fisicamente i vetrini, riducendo i tempi e preservando i materiali sensibili. Grazie alla tecnica di “image analysis” è possibile quantificare le colorazioni immunoistochimiche, stimare la cellularità tumorale, riducendo la variabilità inter-osservatore, e identificare nuovi fattori morfometrici con valore prognostico (densità stromale, raster pattern, texture...). Ciò riduce variabilità, aumenta la riproducibilità e risponde alla necessità di standardizzazione dei criteri diagnostici negli studi clinici. (Pell R. et al., 2019).

Infine, i modelli AI consentono di classificare istotipi tumorali, identificare metastasi microfocali, predire la risposta terapeutica (immunoterapia), stimare la prognosi a partire da caratteristiche morfologiche non immediatamente interpretabili dal patologo.

Questi strumenti rappresentano la computational pathology, la quale integra informazioni morfologiche, cliniche e molecolari in modelli predittivi complessi. (Niazi M.K.K. et al., 2019), (Zhang D.Y. et al., 2024).

Infine, l'impatto della DP si osserva anche nella formazione di patologi, grazie a repository digitali standardizzati, piattaforme e-learning e accesso remoto ai vetrini, consentendo la revisione centralizzata dei casi, applicazione uniforme dei criteri di inclusione e creazione di dataset morfologici su larga scala. (Jahn S.W. et al., 2020).

#### 1.5.2.3. Vantaggi

- Riproducibilità e standardizzazione: la DP riduce la variabilità tra osservatori, standardizza valutazioni come biomarcatori, grading, margini, e favorisce l'utilizzo di protocolli condivisi;
- Efficienza del workflow: la DP consente l'accesso simultaneo di più patologi allo stesso caso, riduzione dei tempi di revisione e automazione della triage grazie ai modelli AI per identificare casi prioritari;
- Accessibilità e collaborazione tra centri, facilitando consulti rapidi.
- Potenziamento tramite AI: le tecniche ML-DL ampliano le capacità diagnostiche e predittive del patologo, introducendo nuove tecniche di analisi morfologica;



- Supporto alla ricerca e alla didattica: la disponibilità di WSI digitali e dataset su larga scala migliora la formazione, favorisce la scoperta scientifica e velocizza gli studi clinici;
- Archiviazione semplici e sicure.

#### 1.5.2.4. Limiti

- Barriere tecniche e infrastrutturali: l'implementazione richiede investimenti e costi significativi in scanner, potenza di calcolo e connettività;
- Integrazione nel workflow clinico: la conversione a un modello full-digital richiede una revisione dei processi operativi, adeguamento delle competenze del personale e cambiamenti nella logistica laboratoristica. (Jahn S.W. et al., 2020);
- Regolamentazione: le normative sono in evoluzione e differiscono tra aree geografiche. La convalida interna rimane essenziale anche in presenza di certificazioni del produttore (Pell R. et al., 2019);
- Limiti dell'AI: necessità di dataset molto ampi, scarsa interpretabilità dei modelli, rischi di bias e variabilità dovuta alle differenze nella preparazione istologica tra centri. (Madabhushi A. and Lee G., 2016);
- Costi e sostenibilità economica: le analisi costo-efficacia disponibili mostrano risultati contrastanti, e il ritorno economico dell'investimento può richiedere diversi anni (Jahn S.W. et al., 2020).

#### 1.6. Trattamento, follow-up e prevenzione

Il trattamento di scelta per la lesione primaria del cSCC è l'escissione chirurgica completa con una rigorosa valutazione istopatologica dei margini di resezione (tipicamente 4-6 mm per basso rischio; >6 mm per alto rischio).

Per ridurre il rischio di recidiva locale e metastasi, sono richiesti margini di sicurezza contenenti tessuto dall'aspetto clinicamente normale attorno al tumore dopo l'escissione chirurgica e margini negativi, come documentato nel referto dell'esame istologico. Non si deve procedere alla sostituzione del lembo finché il margine non sia stato definitivamente superato. (Halim A.S. and Ramasenderan N., 2022).

La maggior parte dei cSCC viene trattata con successo con la sola escissione chirurgica, con una buona prognosi e tassi di guarigione superiori al 90% (Brougham N.D.L.S. et al., 2012).

La chirurgia micrografica di Mohs (MMS), è invece utilizzata per sedi estetiche o funzionali, come viso, naso, labbra e orecchie; per tumori recidivi; quando i margini sono mal definiti o su cSCC ad alto rischio al fine di ottenere una resezione tumorale completa con un'ottimale preservazione anatomica e funzionale. È basata su sezioni congelate intraoperatorie e sull'analisi delle sezioni incluse in paraffina. (Fania L. et al., 2021).

Quando la chirurgia non è possibile, si utilizzano terapie alternative, alcuni esempi sono la radioterapia, per pazienti non operabili o come adiuvante; la C&E (curettage ed elettrocoagulazione), per lesioni a basso rischio; crioterapia, per casi a basso rischio, terapie topiche e terapie fotodinamiche, principalmente per i carcinomi in situ (morbo di Bowen). (Veness M.J. et al., 2005).

Sebbene la chirurgia rimanga il trattamento di prima linea e più efficace per il cSCC, la radioterapia primaria può essere utilizzata in situazioni particolari in cui l'intervento chirurgico non è fattibile, è controindicato o non è preferito dal paziente, dopo una valutazione dei rischi e dei benefici. Diversi tipi di radioterapia possono essere utilizzati per trattare il cSCC, tra cui la radioterapia superficiale, la brachiterapia isotopica (per contatto interstiziale o topico) o la radioterapia a fascio esterno di elettroni. (Lansbury L. et al., 2013). Nei cSCC primari con sospetta invasione perineurale o comunque ad alto rischio di metastasi regionali o a distanza, si può prendere in considerazione la radioterapia adiuvante sul sito tumorale locale dopo il trattamento chirurgico. (Jennings L. and Schmults C.D., 2010).

La terapia adiuvante è un trattamento aggiuntivo per ridurre il rischio di recidiva dopo l'escissione chirurgica completa del cSCC ad alto rischio. (Cassarino D.S. et al., 2006).

Questa terapia può essere sistemica o radiologica. Attualmente, non esistono farmaci approvati per il trattamento del cSCC come terapia adiuvante. Gli agenti chemioterapici più comunemente utilizzati sono stati il 5-fluorouracile, i sali di platino o il paclitaxel, con scarsi risultati (Que S.K.T. et al., 2018).

La RT postoperatoria (PORT) dovrebbe essere presa in considerazione nei pazienti con cSCC con fattori di recidiva tumorale ad alto rischio, inclusi margini di post-escissione positivi che non possono essere riescisi e nei casi di invasione perineurale. La PORT è altamente raccomandata per i pazienti con cSSC con metastasi linfonodali (Likhacheva A. et al., 2020).

Studi approfonditi sui meccanismi patogenetici del cSCC hanno identificato diversi bersagli farmacologici. Infatti, il processo multistadio che porta allo sviluppo e alla progressione del cSCC è caratterizzato da mutazioni nei geni coinvolti nell'omeostasi epidermica e da diverse alterazioni, come modificazioni epigenetiche, infezioni virali o cambiamenti microambientali. Pertanto, l'identificazione di diversi bersagli farmacologici ha permesso lo

sviluppo di nuove terapie sistemiche, tra cui l'immunoterapia, gli inibitori del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR), la chemioterapia e l'elettrochemioterapia. La terapia adiuvante consiste in un trattamento aggiuntivo, sistemico o radioterapia, aggiunto per ridurre il rischio di recidiva dopo l'escissione chirurgica completa del tumore. (Fania L. et al., 2021). Uno dei primi farmaci sistemici ad essere sperimentati sono stati gli inibitori del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR). Un'espressione elevata dell'EGFR è stata osservata nel CSCC avanzato con una frequenza (43-100%) correlata alla probabilità di malattia metastatica.

Anticorpi monoclonali che bloccano il dominio extracellulare del recettore (ad esempio: cetuximab, panitumumab, nimotuzumab, zalutumumab) e inibitori della tirosin-chinasi a piccole molecole (TKI) che bloccano l'attività della tirosin-chinasi e quindi inattivano i percorsi cellulari a valle che sono due tipi di inibitori dell'EGFR (ad esempio: gefitinib, erlotinib, afatinib, lapatinib, neratinib, dacomitinib).

Il cetuximab è un anticorpo monoclonale chimerico umano-topo che sopprime l'EGFR prendendo di mira la regione extracellulare della proteina e interrompendo la segnalazione intracellulare tramite il percorso della chinasi RAS/MAP. È oggetto di studio principalmente per CSCC avanzato. Il cetuximab è classificato come radiosensibilizzante poiché ha un effetto sinergico con le radiazioni. Rispetto alla chemioterapia tradizionale, i farmaci anti-EGFR sono spesso ben tollerati. La maggior parte degli effetti avversi sono cutanei, dose-dipendenti e colpiscono le zone esteticamente sensibili, influenzando in modo significativo sulla qualità della vita del paziente. (Halim A.S and Ramasenderan N., 2022).

Un'altra tecnica di intervento, non resecabile, è l'elettrochemioterapia e può essere utilizzata per il controllo della malattia e la riduzione della progressione tumorale. L'iniezione endovenosa di un agente chemioterapico (ad esempio, cisplatino o bleomicina) viene associata a impulsi elettrici locali che permeabilizzano le membrane delle cellule tumorali, con un drastico aumento della sua citotossicità (Gehl J. et al., 2018).

Nello studio prospettico multi-istituzionale European Research on Electrochemotherapy in Head and Neck Cancer (EURECA) sull'efficacia dell'elettrochemioterapia, che ha preso in considerazione 47 pazienti affetti da cSCC, il tasso di risposta completa al follow-up a 2 mesi è stato del 55% (26 pazienti), con un tasso di progressione di solo il 4%. La tossicità è stata prevalentemente locale (ad esempio, iperpigmentazione e ulcerazione cutanea) (Bertino G. et al., 2016).

Un'ulteriore alternativa terapeutica alla chirurgia per casi limitati di cSCC a basso rischio è la C&E: curettage ed elettrodeessicazione, per i cSCC primari di piccole dimensioni e a basso rischio.

Si svolge in tre passaggi, ripetuti circa 2-3 volte: il medico raschia la lesione con una curette, rimuovendo il tessuto tumorale fino al derma; successivamente si utilizza una punta elettrificata per distruggere eventuali cellule residue, per far coagulare i vasi sanguigni e formare una base più omogenea.

La crioterapia si basa sul congelamento rapido del tessuto con un agente criogeno, principalmente azoto liquido a -196°C. Il congelamento provoca la formazione di cristalli di ghiaccio e la rottura delle membrane cellulari; una ischemia locale e la necrosi controllata del tessuto trattato.

Data la mancanza di controllo dei margini istologici con questo approccio, nonché il noto rischio di estensione subclinica del cSCC, la criochirurgia dovrebbe essere presa in considerazione solo per lesioni a basso rischio, quando terapie più efficaci sono controindicate o impraticabili. (Lansbury L. et al., 2013).

Le terapie topiche prevedono l'uso di imiquimod o 5-fluorouracile (5-FU) per via topica nel cSCC (escluso il caso di SCC in situ). Poiché l'uso di 5-FU provoca tipicamente eritema marcato, erosioni e croste che durano un mese o più, una ridotta compliance del paziente ai regimi terapeutici può comportare una riduzione dell'efficacia. Analogamente, il dosaggio di imiquimod per il cSCC è complicato dagli effetti tissutali risultanti, tra cui eritema, edema ed erosioni, ulcerazione e croste, che non sono costanti da un individuo all'altro. (Lansbury L. et al., 2013).

La terapia fotodinamica (PDT) è un trattamento in due fasi che consiste nell'applicazione topica di un fotosensibilizzatore, acido 5-aminolevulinico (ALA) o metilaminolevulinato (MAL), seguita da 1 a diverse ore di incubazione mediante irradiazione luminosa, in genere con una fonte di luce blu, rossa o a banda larga. (Roozeboom M.H. et al., 2013).

Quando la terapia fotodinamica è associata alla chirurgia, è possibile utilizzare più trattamenti di PDT. Tuttavia, è stata segnalata l'esacerbazione o l'induzione di cSCC ben differenziato o cheratoacantoma dopo la terapia. (Kwiek B. and Schwartz R.A., 2016).

Per il trattamento dei linfonodi e la gestione dei pazienti con malattia metastatica, si può considerare la linfadenectomia, la radioterapia adiuvante per linfonodi positivi e terapie sistemiche come l'immunoterapia anti-PD1 o chemioterapia.

Si stima che il rischio di metastasi nel cSCC sia pari a circa il 4%. (Brantsch K.D. et al., 2008).

Le metastasi cutanee in transito e nei linfonodi regionali rappresentano la presentazione metastatica più comune, seguite dalle metastasi a distanza. Nei pazienti con tumori localizzati ad alto rischio, è stata segnalata la diagnosi di metastasi linfonodali occulte mediante biopsia del linfonodo sentinella (SLNB). Tuttavia, l'effetto della SLNB sulla gestione e sull'esito dei pazienti con cSCC ad alto rischio è sconosciuto.

La letteratura disponibile sulla gestione delle metastasi in transito e linfonodali è in gran parte limitata a revisioni retrospettive. Le raccomandazioni terapeutiche si basano sull'estensione della malattia e consistono principalmente nella resezione chirurgica con possibile dissezione linfonodale.

Come terapia adiuvante si considerano gli anticorpi anti-recettori di morte programmata-1 (PD-1), un tipo di inibitore del checkpoint immunitario (immunoterapia) approvato per i pazienti con CSCC metastatico o localmente avanzato che non sono candidati alla chirurgia curativa o alla radioterapia, e che quindi vengono utilizzati come terapia neoadiuvante. (Halim A.S. and Ramasenderan N., 2022).

Una volta diagnosticato un cSCC, è necessario eseguire uno screening ambulatoriale per nuovi tumori cutanei primari, inclusi BCC, cSCC e melanoma, almeno una volta all'anno, adeguando la frequenza in base al rischio individuale del paziente. La valutazione clinica dei bacini linfonodali regionali può essere inclusa nell'esame obiettivo per le lesioni ad alto rischio. Questa raccomandazione deriva dalle considerevoli evidenze provenienti da studi di coorte e registri secondo cui un paziente con almeno 1 cSCC è a rischio di sviluppare ulteriori cSCC, oltre ad altri tumori cutanei, inclusi BCC e melanoma. (Wheless L. et al., 2010).

I pazienti affetti da cSCC dovrebbero essere informati sul rischio di nuovi tumori cutanei primari, sulla necessità di uno screening ambulatoriale e sui potenziali benefici dell'auto-screening. L'auto-sorveglianza concomitante del paziente per il cSCC e altri tumori cutanei può essere di ulteriore utilità per l'individuazione di nuovi tumori primari quando sono ancora piccoli e facilmente trattabili. (Robinson J.K. et al., 2016).

Una diagnosi precoce e un trattamento corretto sono fondamentali per migliorare la prognosi del cSCC, ma la prevenzione gioca un ruolo cruciale nel ridurre l'incidenza e migliorare la

prognosi del cSCC. La misura di prevenzione più importante è rappresentata dalla riduzione dell'esposizione ai raggi UV. (Saraiya M. et al., 2004).

In studi sperimentali e prospettici è stato evidenziato che l'uso regolare di filtri solari e l'applicazione quotidiana della protezione solare riduce l'incidenza di cSCC e la tumorigenesi.

Molti agenti topici e orali sono stati raccomandati per ridurre il rischio di un nuovo SCC o di altri tumori della pelle dopo una diagnosi iniziale di cSCC, ma le evidenze a favore di questi agenti sono contrastanti. Non è stato dimostrato che i retinoidi topici riducano l'incidenza di tumori cheratinocitari o cheratosi attinica in questi pazienti con una storia di cancro ai cheratinociti. (Weinstock M.A. et al., 2012).

Sono disponibili prove limitate a supporto dell'utilità di altri agenti, tra cui la terapia fotodinamica ciclica (PDT), la nicotinamide orale e il celecoxib, nel ridurre il rischio di cSCC nei pazienti con una storia di carcinoma cheratinocitario. Un piccolo studio ha dimostrato che la nicotinamide orale può ridurre il rischio di un successivo carcinoma cheratinocitario in soggetti non immunodepressi con una storia di tali carcinomi. (Chen A.C. et al., 2015).

## 2. SCOPO DELL'ELABORATO

Lo scopo dell'elaborato è analizzare i principali fattori prognostici istopatologici del carcinoma squamoso cutaneo (cSCC), fra cui spessore massimo di infiltrazione, dimensione radiale massima, ulcerazione, differenziazione istologica, margini di accrescimento, invasione perineurale, reazione linfocitaria peritumorale, coinvolgimento dei margini chirurgici e invasione linfovaskolare, su una serie di 31 casi provenienti dalla pratica diagnostica, del laboratorio di Anatomia Patologica dell'Ospedale degli Infermi (Ponderano, Biella).

L'obiettivo centrale è confrontare la valutazione di tali parametri ottenuta tramite microscopia ottica tradizionale con quella eseguita attraverso strumenti di Digital Pathology, mediante l'utilizzo dello scanner NanoZoomer S60, dei software NDP.scan, NDP.view 2 e del software di refertazione Winsap 3.0.

Attraverso questo confronto si intende determinare se la Digital Pathology possa migliorare accuratezza, riproducibilità, oggettivazione delle misurazioni e qualità complessiva della refertazione, nel contesto dei percorsi diagnostici definiti dalla Rete Oncologica.

In sintesi, gli obiettivi dell'elaborato risultano:

1. Confrontare la valutazione dei fattori prognostici in cSCC tra microscopia ottica e il sistema di Digital Pathology;
2. Valutare se l'utilizzo della Digital Pathology riduce la variabilità diagnostica;
3. Analizzare i vantaggi in termini di refertazione e gestione clinica.

E rispondere alle seguenti domande:

- La Digital Pathology è sovrapponibile alla microscopia ottica nella valutazione dei parametri prognostici del cSCC?
- Ci sono differenze nella valutazione del grading?
- Cambia la valutazione dei fattori prognostici?
- Migliora la riproducibilità inter-osservatore?

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1. Casistica: criterio di selezione e tipologia di campioni

La casistica è costituita da 31 casi di carcinoma squamoso cutaneo, selezionati a partire dai referti istologici archiviati presso il reparto di Anatomia Patologica dell'Ospedale di Biella, compresi tra il 7/01/2025 e il 15/04/2025.

I criteri per la scelta dei referti sono stati: diagnosi istologiche di cSCC, disponibilità dei vetrini istologici originali; presenza di campioni adeguati alla valutazione dei principali fattori prognostici istopatologici.

I dati clinico-patologici sono stati ottenuti tramite la consultazione dei referti istologici, precedentemente sanitizzati nel rispetto della normativa sulla privacy.

Per ciascun caso sono state raccolte le seguenti informazioni, e raccolte nell'allegato 7.1. e 7.3.:

- Sesso ed età del paziente;
- Sede anatomica della lesione;
- Quesito diagnostico;
- Tipo di campione (biopsia escissionale...);
- Diagnosi istologica.

#### 3.2. Winsap 3.0.

Winsap è un software di Anatomia Patologica utilizzato come sistema di refertazione istopatologica e archivio digitale dei referti diagnostici.

Questo software è stato utilizzato per il recupero dei casi e dei dati clinico-patologici, per selezionare i casi di cSCC tramite diagnosi (cSCC), anno (da gennaio ad aprile 2025) e numero di casi (minimo 30 casi).

I referti sono stati sanitizzati, per l'utilizzo degli stessi in forma anonima.

Winsap ha quindi permesso di correlare ciascun referto al materiale istologico corrispondente, successivamente recuperato tramite il sistema di archiviazione BB Traccia.

([https://www.eng.it/resources/platform/winsap/Winsap\\_3.0.pdf](https://www.eng.it/resources/platform/winsap/Winsap_3.0.pdf)).



### 3.3. Sistema di archiviazione: bbTraccia

bbTraccia è un sistema informatico di tracciabilità e archiviazione fisica dei materiali di Anatomia Patologica e garantisce la rintracciabilità completa del materiale, riduce errori di smarrimento e consente il recupero rapido e documentato dei vetrini.

Ogni materiale istologico è associato ad un codice univoco (es. 2025/A/54, codice del primo vetrino analizzato), e una posizione precisa all'interno dell'archivio.

Inserendo quindi il numero di caso, anno e codice identificativo il sistema ha indicato il punto esatto in cui si trova.

Questo sistema di archiviazione e tracciabilità ha consentito il recupero dei vetrini partendo dai referti istologici e l'utilizzo combinato dei sistemi Winsap e BB Traccia ha consentito una gestione integrata dei dati digitali e dei materiali istologici fisici, garantendo completezza, tracciabilità e affidabilità dei processi di selezione dei casi. (<https://www.bbtraccia.it>).

### 3.4. Preparazione dei campioni

I campioni cutanei analizzati nello studio sono stati sottoposti al normale iter diagnostico di Anatomia Patologica, che prevede i seguenti step:

- Accettazione del campione: viene controllato nome, cognome, sede anatomica e presenza del quesito sulla richiesta; se sulla richiesta cartacea ci sono delle modifiche a penna ci deve essere per ogni modifica la controfirma del medico.

Segue l'accettazione su Winsap: si seleziona A (istologico), B (citologico extravaginale), C (pap test), M (molecolari), CS (consulenza), R (revisione).

Una volta creato il protocollo del caso viene stampata l'etichetta due volte, la prima andrà sulla richiesta, la seconda sul campione.

In particolare, per i campioni di cute viene inviata biopsia cutanea, per cui bisognerà inserire la sede del prelievo (punch, shave, escissionale, escissionale...).

- Riduzione del campione: innanzitutto il campione viene esaminato macroscopicamente, descritto per dimensione, forma, colore e presenza di lesioni visibili.

Vengono successivamente identificati e campionati i margini chirurgici e la lesione.

Viene prima preparata la cappa: 2 sacchetti per i rifiuti con la data segnata, un contenitore con i coperchi per biocassette, un contenitore con i ferri in acqua e

disinfettante, un contenitore con le spugnette immerse in acqua e alcol, la vaschetta con la formalina, eosina e cestello, infine un tagliere.

Possiamo osservare 4 tipi di casi: urgenze (biocassette gialle), da far partire in giornata con alta precedenza; Gic bollino rosso (biocassette bianche o rosa), hanno un tempo di refertazione di 25 giorni dal giorno di accettazione e sono casi neoplastici; Gic, Routine.

- InCLUSIONE: i frammenti prelevati dalla riduzione vengono sottoposti a disidratazione, chiarificazione e inclusione in paraffina con il processatore;

Dopo aver controllato che le richieste siano in ordine crescente, vanno suddivise per tipologia, dando la precedenza all'inclusione dei casi in base all'urgenza (dalle urgenze con colorazioni e immunoistochimica singola, urgenze senza colorazioni, ricampionamenti, citologici, urgenze con immunoistochimica multipla, gic bollino rosso, gic normale, routine a, infine, i casi incompleti).

I blocchetti inclusi vengono lasciati raffreddare sulla piastra fredda e staccati senza forzare, ripuliti dalla paraffina in eccesso e messi in frigorifero in ordine crescente nel ripiano corretto (gic bollino rosso, gic, routine). Le urgenze vanno direttamente consegnate al capotaglio assieme alle richieste e i blocchetti rosa vanno in immunoistochimica.

Al termine del processo viene effettuata la pulizia del processatore e il cambio della paraffina.

- Taglio e allestimento dei vetrini: i blocchetti in paraffina vengono sezionati al microtomo (spessore medio 3-4 micrometri) e le sezioni vengono montate sui vetrini. In ordine si tagliano colorazioni speciali e immunoistochimiche in accordo con il reparto di inclusione, poi si tagliano le urgenze e infine si passa a tagliare i casi secondo le priorità.
- Colorazione istologica: le sezioni vengono colorate con ematossilina-eosina (H&E). Ulteriori colorazioni possibili sono Alcian blu (mucopolisaccaridi acidi in blu) e controcolorazione con carmallume (rosso); Alcian blu pas (mucopolisaccaridi acidi in blu e neutri in rosso); PAS: (glicogeno e mucine neutre in rosso, usando il reattivo di Schiff), e controcolorazione con emallume (blu); PAS distasi (mucine neutre in rosso); impregnazione argentea (fibre reticolari in nero) e contrasto in giallo/bruno; Giemsa (*Helicobacter pylori* in blu); Perls (accumuli di ferritina ed emosiderina in blu) e contrasto con emallume in rosso; Rosso congo (accumuli di amiloide in rosso) e contrasto con emallume in blu.

### 3.4.1. Immunoistochimica P40

L'immunoistochimica è una tecnica fondamentale per la diagnosi tissutale e il rilevamento di biomarcatori. Viene principalmente impiegata in combinazione con l'analisi morfologica come strumento diagnostico e rappresenta una solida ed economicamente vantaggiosa piattaforma per il rilevamento di biomarker (Khoury J.D. et al., 2018).

Sempre più frequentemente vengono resi disponibili marcatori immunoistochimici per le proteine normali o mutate in seguito ad eventi di carcinogenesi.

L'immunoistochimica si basa sulla reazione tra gli anticorpi e gli antigeni tissutali, che si trovano tipicamente all'interno di sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina (FFPE). Gli antigeni sono solitamente proteine o glicoproteine localizzate all'interno di uno o più compartimenti subcellulari, come la membrana cellulare, il citosol, i mitocondri e/o il nucleo. L'anticorpo primario può essere monoclonale o policlonale, di solito della classe IgG, ed è prodotto mediante immunizzazione di un ospite mammifero come topo, coniglio, capra o cavallo. Nelle procedure immunoistochimiche utilizzate nella pratica clinica quotidiana è più comune l'uso di un anticorpo secondario specifico per la specie. Attraverso il legame tra biotina e avidina, il complesso antigene-anticorpo viene avvicinato a un polimero contenente perossidasi per consentire la precisa generazione e deposizione di molecole di cromogeno nelle immediate vicinanze del complesso. (Sukswai N. and Khory J.D., 2019).

In immunoistochimica, l'utilizzo dei controlli positivi rappresenta un requisito fondamentale per garantire l'affidabilità del risultato. Per ciascuno anticorpo utilizzato, è necessario affiancare un tessuto noto per esprimere per esprimere fisiologicamente l'antigene di interesse, al fine di confermare il corretto funzionamento della procedura tecnica.

Nel laboratorio, i controlli positivi di riferimento includono: mammella per HER2, placenta per PD-L1, tonsilla per MLH1 e cervice per ER e PR, cute per p40.

Per lo studio dell'instabilità dei microsatelliti (MSI), qualora il controllo interno non sia presente o non risulti valutabile, è necessario associare un controllo esterno di tessuto normale per tutti i marker del pannello MMR (MLH1, MSH2, PMS2, MSH6).

P40 è un anticorpo immunoistochimico che riconosce l'isoforma  $\Delta$ Np63 del gene TP63, una proteina nucleare espressa dalle cellule dell'epitelio squamoso, ed il marker più specifico per la differenziazione squamosa.

P40 viene utilizzato per confermare la natura squamosa di una neoplasia; distinguere il carcinoma squamoso da altre neoplasie epiteliali (adenocarcinomi, carcinomi basaloidei, tumori indifferenziati...), supportare diagnosi nei casi poco differenziati.

Presenta localizzazione nucleare, con nuclei intensamente colorati nei casi positivi e l'intensità può variare in base al grado di differenziazione.

- Controllo positivo: tessuti squamosi normali (cute, mucosa orale, tonsilla), carcinoma squamoso noto;
- Controllo negativo: tessuti privi di differenziazione squamosa (es. adenocarcinomi);
- Controllo interno: epidermide normale presente nello stesso vetrino.

### 3.5. Valutazione al microscopio ottico

#### 3.5.1. Parametri considerati e osservati

L'analisi istopatologica è stata effettuata su sezioni colorate con ematossilina-eosina, con valutazione dei principali parametri morfologici e prognostici del carcinoma squamocellulare cutaneo.

Il cSCC al microscopio presenta architettura caratteristica (nidi, trabecole e infiltrazione nel derma), cheratinizzazione (perle cornee), atipia cellulare e livello di mitosi.

Per ogni caso si possono trovare le schede di riferimento nel paragrafo 7.4.

- Caso 54

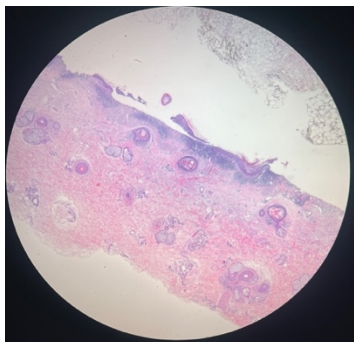


Figura 10: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: epidermide lievemente irregolare e ispessita in alcuni tratti, con zone di ulcerazione. Il derma appare fibroso con fasci stromali eosinofili.

Presenza di annessi cutanei: follicoli, ghiandole sudoripare e sebacee nel derma.

Si vedono alcuni vasi dermici con emazie.

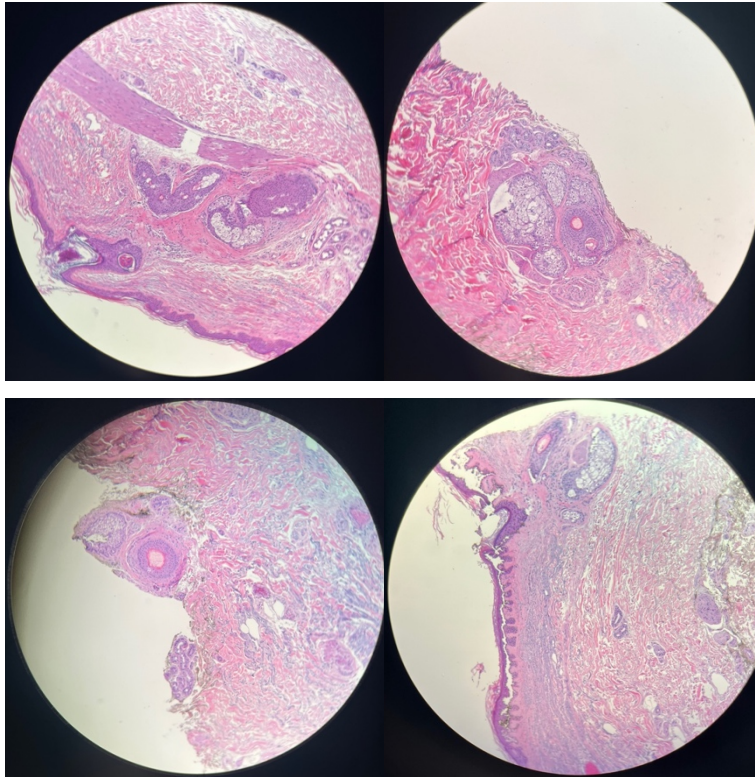


Figura 11: Carcinoma squamocellulare in situ della cute (ematossilina-eosina, 10x): in alto a sinistra, si osserva una lesione epiteliale cutanea esofitica ed endofitica, epidermide superficiale con ipercheratosi.

Nel derma sottostante si osservano proliferazioni epiteliali squamose in nidi e cordoni.

Sono presenti strutture cistiche con materiale cheratinico e aree di cheratinizzazione centrale.

Si notano gli annessi cutanei.

Lo stroma appare fibroso e desmoplastico, con reazione stromale attorno ai nidi epiteliali.

In alto a destra, si apprezzano i nidi epiteliali dermici ben delimitati, alcuni con disposizione lobulare.

I margini di accrescimento appaiono espansivi, ma ci sono nidi periferici separati dallo stroma che suggeriscono componente infiltrativa focale.

In basso a sinistra, si può osservare una struttura cheratinizzante ben definita, compatibile con una perla cornea. Intorno si osservano nidi epiteliali squamosi dermici.

In basso a destra, si osserva bene il rapporto tra epidermide superficiale e derma.

L'epidermide è iperplastica e acantotica, con zona di ulcerazione superficiale.

Nel derma si osservano nidi epiteliali separati dallo stroma fibroso.

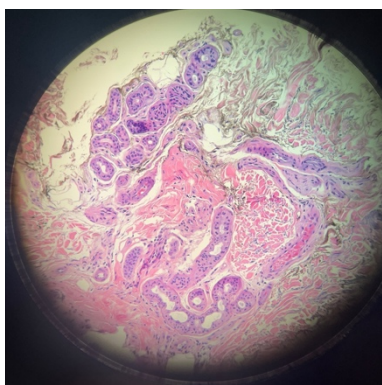


Figura 12: Carcinoma squamocellulare cutaneo in situ della cute (ematossilina-eosina, 20x): si osservano nidi epiteliali squamosi dermici, differenziazione squamosa evidente, cellule poligonali eosinofili e piccoli focolai di cheratinizzazione.

L'atipia nucleare appare lieve-moderata, con nuclei aumentati di volume, ipercromasia variabile ma senza pleomorfismo marcato.

Lo stroma rimane fibroso e desmoplastico attorno ai nidi.

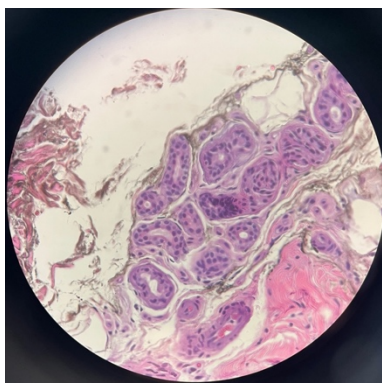


Figura 13: Carcinoma squamocellulare cutaneo in situ della cute (ematossilina-eosina, 40x): si osservano nidi di cellule squamose immerse nello stroma fibroso.

L'atipia nucleare è lieve-moderata, nuclei aumentati e irregolari, ipercromasia variabile ma non marcata.

Mitosi non evidenti.

Lo stroma intorno è fibroso con lieve infiltrato infiammatorio.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare lieve/moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo; cheratinizzazione focale/moderata;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e desmoplastico, con fasci di collagene densi che circondano e separano i nidi epiteliali.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 1 mm;
- Dimensione radiale massima: 11 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 57

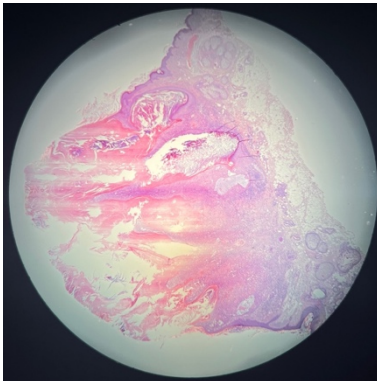


Figura 14: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: epidermide conservata ai margini e lesione centrale ampia, esofitica ed endofitica.

Si osserva marcata cheratinizzazione.

La zona centrale è occupata da materiale eosinofilo compatto.

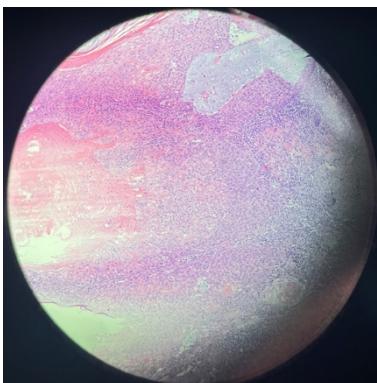


Figura 15: Carcinoma squamocellulare della cute ben differenziato (ematossilina-eosina, 10x): cheratinizzazione evidente, con aree eosinofile e perle cornee, che orientano verso un tumore ben differenziato.

Si osserva bene la reazione infiammatorio linfocitaria nel derma circostante, almeno moderata.

I margini di crescita appaiono espansivi.

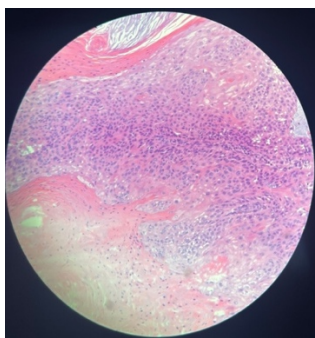


Figura 16: Carcinoma squamocellulare cutaneo ben differenziato (ematossilina-eosina, 20x): atipia nucleare lieve/moderata. Il grado di differenziazione è compatibile con G1. La reazione linfocitaria è moderata.

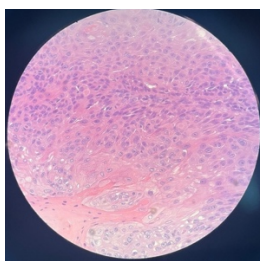


Figura 17: Carcinoma squamocellulare cutaneo ben differenziato (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose atipiche, discheratosiche, con abbondante citoplasma eosinofilo, nuclei aumentati di volume, irregolari con ipercromasia e variabilità di forma e dimensione. Le mitosi non sono numerose in questo campo; l'atipia, quindi rimane moderata.

#### Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare lieve/moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo e denso, cheratinizzazione individuale e discheratosi;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e desmoplastico, con fasci di collagene tra i nidi tumorali.

#### Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: espansivi.



- Caso 288

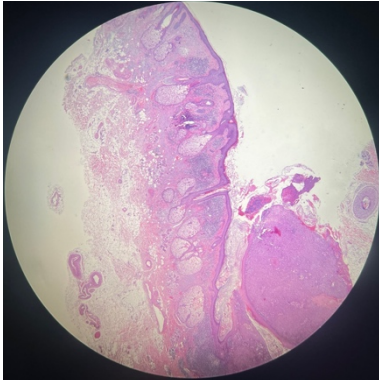


Figura 18: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale squamosa, con epidermide ispessita e irregolare, la proliferazione scende nel derma con nidi squamosi, in continuità con l'epidermide.

Si osservano strutture cheratiniche e follicolari.

La cheratinizzazione è abbondante e lo stroma appare fibroso e infiammato.

A destra si possono osservare aree di ulcerazione.

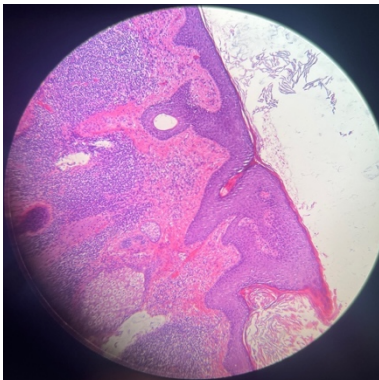


Figura 19: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): epidermide ispessita, con creste epiteliali allungate.

La proliferazione squamosa scende nel derma in nidi e cordoni.

La cheratinizzazione è abbondante, con perle cornee e cheratinizzazione intratumorale.

Lo stroma rimane fibroso e infiammato, e l'infiltrato infiammatorio è moderato.

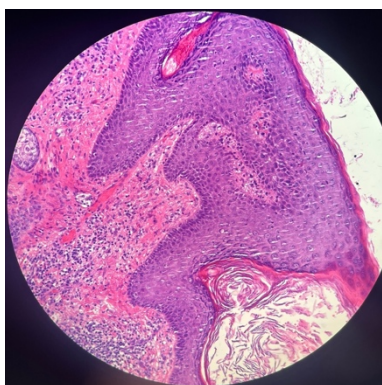


Figura 20: Carcinoma squamocellulare cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): l'epitelio è ispessito e acantotico, la cheratinizzazione è evidente, con perle cornee. Lo stroma è reattivo e fibroso, con reazione linfocitaria moderata.

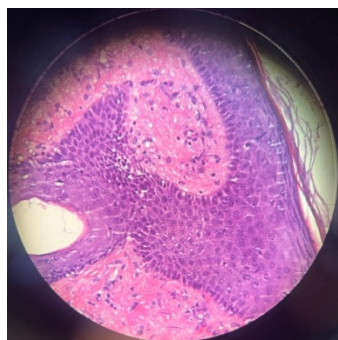


Figura 21: Carcinoma squamocellulare cutaneo ben differenziato (ematossilina-eosina, 40x): le cellule appaiono atipiche, disposte in cordoni e nidi. I nuclei sono aumentati di volume, ipercromatici, irregolari, con anisocariosi evidente. L'atipia nucleare è marcata e lo stroma appare fibroso e infiammato.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo, si osserva cheratinizzazione individuale;
- Mitosi: frequenti;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 4 mm;
- Dimensione radiale massima: 11 mm;
- Invasione perineurale: immagini dubbie;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 289

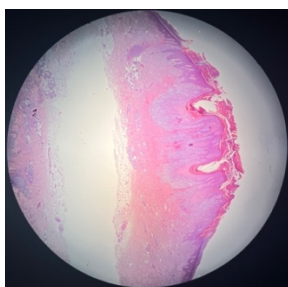


Figura 22: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: epidermide ispessita e acantotica, si osserva ipercheratosi importante in superficie, con lamelle di cheratina. Architettura tumorale esofitica, con creste epidermiche allungate e irregolari. Nel derma si osserva stroma fibroso e reattivo.

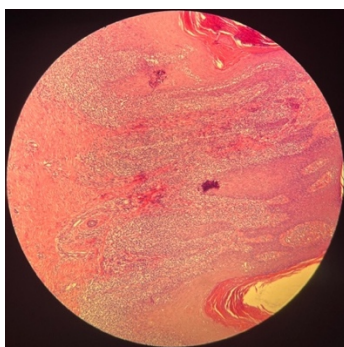


Figura 23: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): si osserva una proliferazione squamosa cheratinizzante con epitelio ispessito e presenza di abbondante cheratina superficiale. Nel derma si osserva una reazione infiammatoria moderata, con linfociti distribuiti in modo peritumorale e intratumorale. La superficie mostra ipercheratosi.

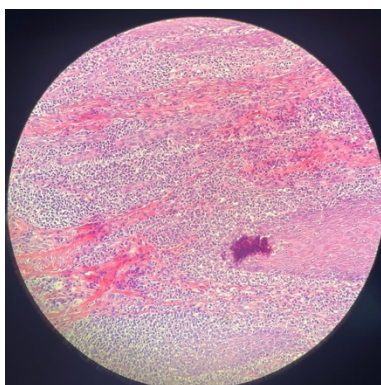


Figura 24: Carcinoma squamocellulare cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nel derma si osserva abbondante infiltrato infiammatorio. Lo stroma appare fibroso, desmoplastico e reattivo. L'atipia nucleare sembra moderata, con nuclei aumentati di volume e irregolari.

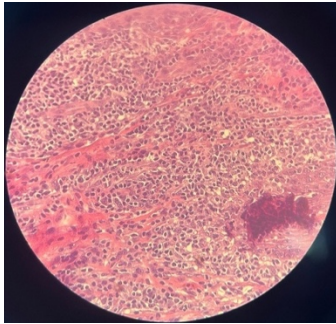


Figura 25: Carcinoma squamocellulare cutaneo (ematossilina-eosina, 40x): si osserva principalmente infiltrato infiammatorio. L'atipia appare moderata, con nuclei aumentati di volume e irregolari.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e desmoplastico-reattivo.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 293

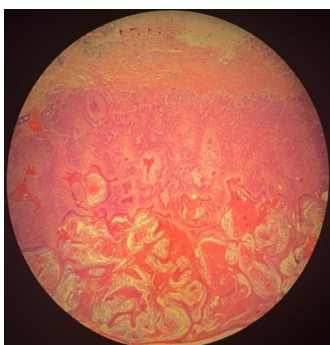


Figura 26: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: Lesione cutanea cheratinizzante, con architettura compatibile con una proliferazione squamosa.

Nel derma si osservano nidi epiteliali squamosi, perle cornee e cheratinizzazione abbondante.

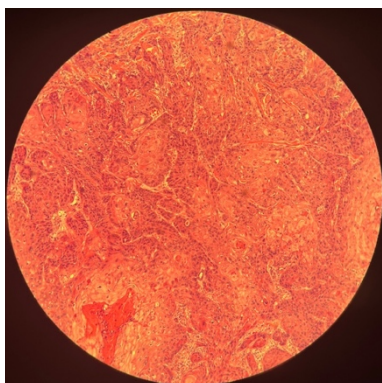


Figura 27: Carcinoma squamocellulare della cute insorto su cheratoacantoma (ematossilina-eosina, 10x): il campo conferma la cheratinizzazione abbondante, si osservano nidi e cordoni di cellule squamose atipiche nel derma. Il margine di crescita appare infiltrativo.

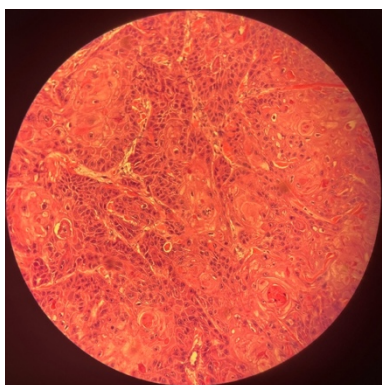


Figura 28: Carcinoma squamocellulare cutaneo insorto su cheratoacantoma (ematossilina-eosina, 20x): nidi e cordoni di cellule squamose immersi nello stroma fibroso. La cheratinizzazione è evidente, con cellule discheratosiche e perle cornee.

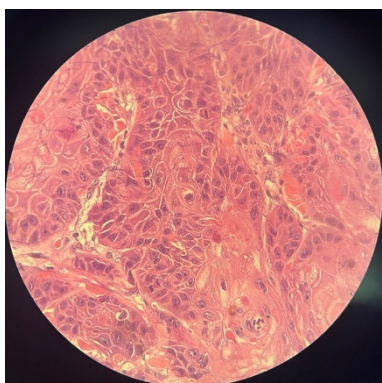


Figura 29: Carcinoma squamocellulare cutaneo insorto su cheratoacantoma (ematossilina-eosina, 40x): le cellule squamose presentano abbondante citoplasma eosinofilo, si osserva anche cheratinizzazione individuale e discheratosi. L'atipia nucleare è marcata, con nuclei

ingranditi, irregolari e ipercromatici, con anisocariosi. Lo stroma appare fibroso e desmoplastico.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo, con discheratosi;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 6 mm;
- Dimensione radiale massima: 14 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa/assente;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.

- Caso 513

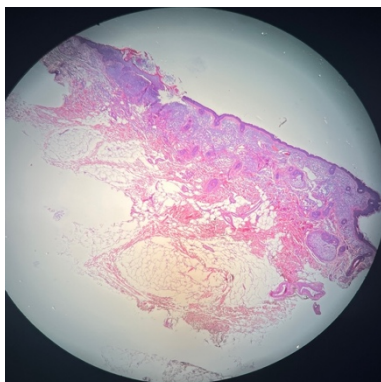


Figura 30: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale superficiale estesa, con epidermide ispessita e irregolare. Presenza di nidi epiteliali di cellule squamose che scendono nel derma. Nel derma si osserva stroma fibroso e desmoplastico.



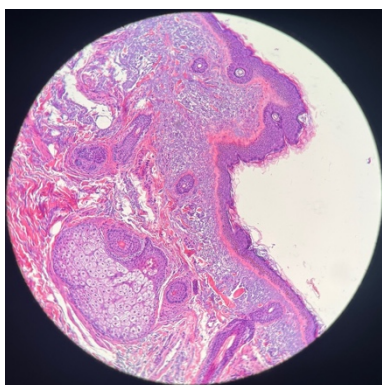


Figura 31: Carcinoma squamocellulare in situ della cute (ematossilina-eosina, 10x): epidermide ispessita e irregolare, con acantosi e cheratinizzazione superficiale. Nel derma ci sono nidi e lobuli epiteliali ben definiti. Sono presenti anche strutture follicolari e annessiali vicine alla lesione. Lo stroma appare fibroso e reattivo, con modesta componente infiammatoria.

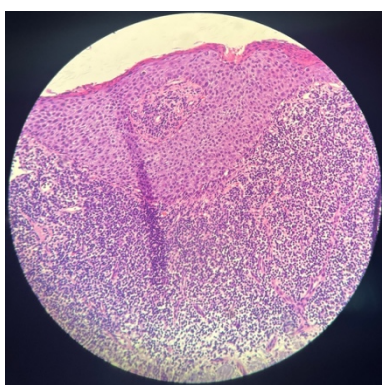


Figura 32: Carcinoma squamocellulare cutaneo in situ (ematossilina-eosina, 20x): si intravede l'epidermide ispessita e acantotica. Sotto l'epidermide, reazione linfocitaria modesta. La componente epiteliale mostra atipia nucleare moderata, con nuclei aumentati di volume, irregolari. I margini di accrescimento sono prevalentemente espansivi.

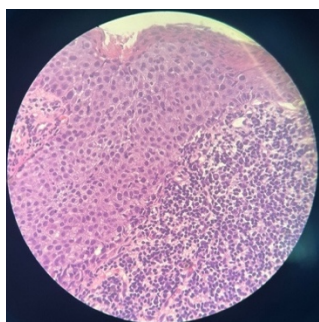


Figura 33: Carcinoma squamocellulare cutaneo in situ (ematossilina-eosina, 40x): i nuclei sono ingranditi, irregolari e ipercromatici. L'atipia nucleare è moderata, in alcuni punti anche moderato-marcata. Si osserva infiltrato infiammatorio linfocitario denso, marcato.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata-marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti ma non frequenti;
- Stroma: fibroso e reattivo.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 4 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: modesta;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 530

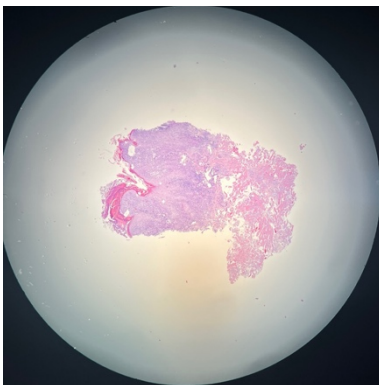


Figura 34: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale, con area cheratinica ampia. La lesione ha un pattern di crescita espansivo. A destra lo stroma è fibroso.

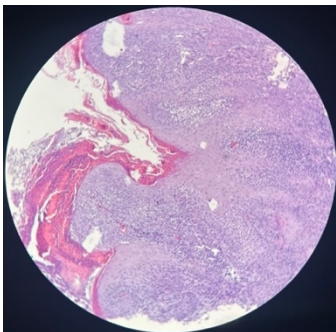


Figura 35: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): proliferazione squamosa cheratinizzante, con nidi di cellule atipiche nel derma, la cheratinizzazione è



evidente e la componente tumorale ben differenziata. Si osserva già una reazione linfocitaria moderata.

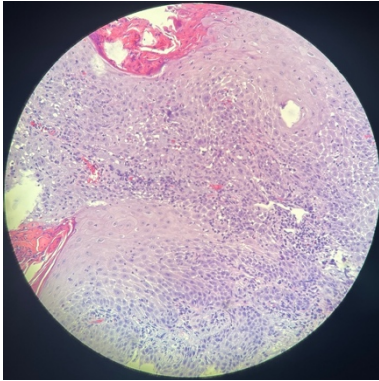


Figura 36: Carcinoma squamocellulare cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): si osservano cellule squamose atipiche, con abbondante citoplasma eosinofilo. La cheratinizzazione rimane evidente. L'atipia nucleare è moderata, con nuclei aumentati di volume, irregolari e variabilità dimensione. La reazione linfocitaria peritumorale è moderata.

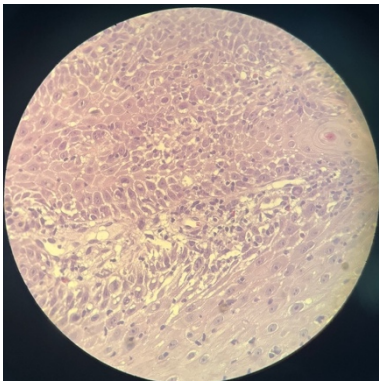


Figura 37: Carcinoma squamocellulare cutaneo (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose atipiche con citoplasma abbondante. Atipia nucleare moderata, con nuclei ingranditi, irregolari e ipercromatici. Reazione linfocitaria moderata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;

- Dimensione radiale massima: 2 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 581

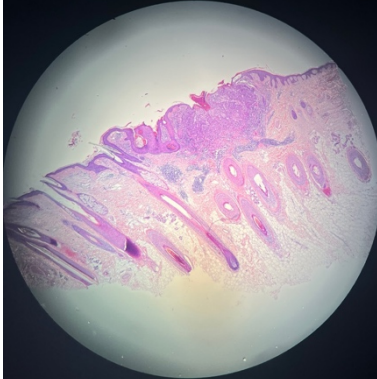


Figura 38: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: epidermide irregolare e ispessita, con are centrale ulcerata. Proliferazione squamosa dermica sotto l'epidermide. Presenza di cheratinizzazione evidente, con perle cornee. Nel derma sottostante si osservano annessi piliferi conservati e infiltrato infiammatorio evidente intorno alla lesione. I margini di accrescimento appaiono prevalentemente espansivi.

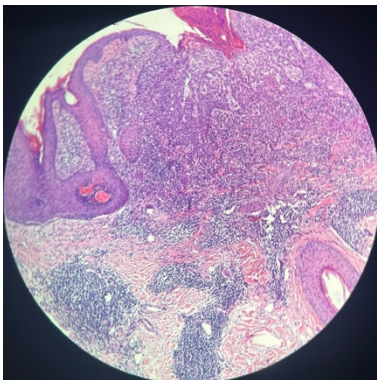


Figura 39: Carcinoma basosquamoso della cute (ematossilina-eosina, 10x): ispessimento epiteliale irregolare e crescita verso il derma. Cheratinizzazione evidente nella componente epiteliale. Nidi e cordoni di cellule squamose nel derma superficiale. Presenza di stroma fibroso e desmoplastico tra i nidi epiteliali, con reazione linfocitaria modesta. I margini di accrescimento sembrano prevalentemente espansivi, con focolai di infiltrazione.

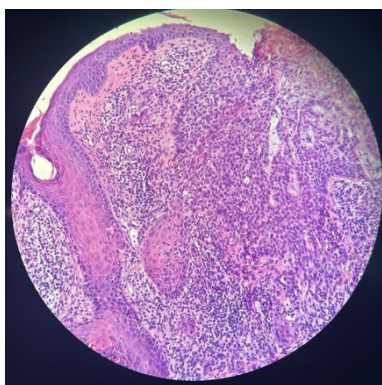


Figura 40: Carcinoma basosquamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): la proliferazione è composta da cellule squamose atipiche disposte in nidi e cordoni nel derma. L'atipia nucleare sembra moderata, nuclei aumentati di volume e ipercromasia. La reazione linfocitaria è modesta, con numerosi linfociti attorno ai nidi tumorali. La superficie appare focalmente ulcerata, con perdita di epitelio superficiale.

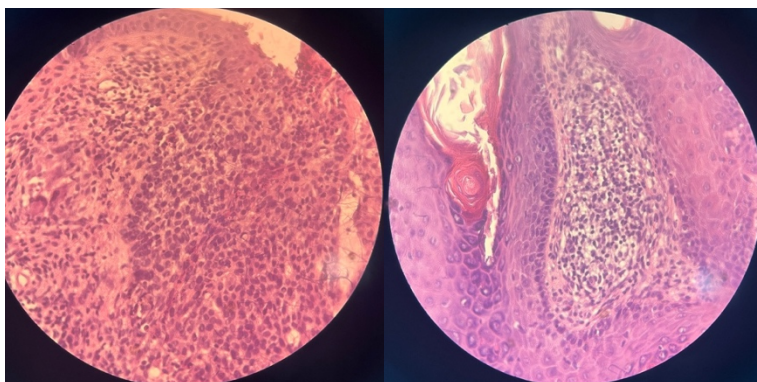


Figura 41: Carcinoma basosquamoso (ematossilina-eosina, 40x): a sinistra, cellule epiteliali atipiche disposte in nidi e cordoni. Atipia nucleare moderata, con nuclei ingranditi, ipercromici e variabilità nucleare. Infiltrato infiammatorio modesto. A destra, cheratinizzazione evidente, le cellule squamose mostrano citoplasma abbondante.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti ma non frequenti;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 4 mm;

- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: modesta;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 586

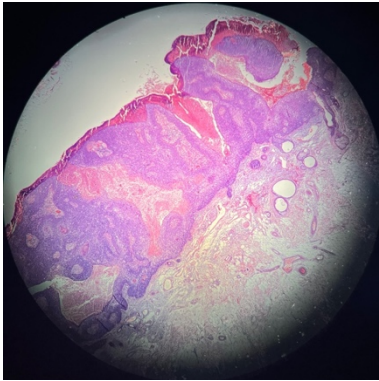


Figura 42: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale esofitica e ulcerata, con architettura nodulare e lobulata. La crescita appare prevalentemente espansiva. Nel derma circostante si osserva stroma fibroso e desmoplastico. La componente centrale e superficiale sembra compatibile con cheratinizzazione e ulcerazione superficiale.

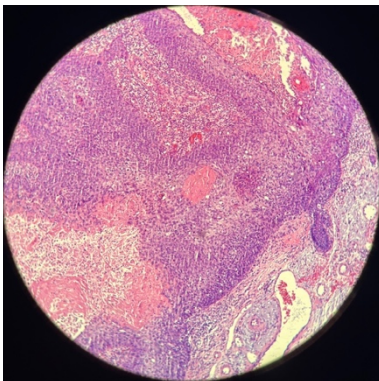


Figura 43: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 10x): proliferazione epiteliale, con isole tumorali ampie e compatte. Presenza di cheratinizzazione centrale. Lo stroma circostante appare fibroso e desmoplastico, con scarsa reazione infiammatoria. La crescita è prevalentemente espansiva con focolai infiltrativi.

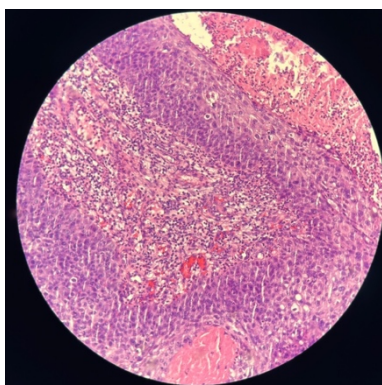


Figura 44: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): si osservano nidi di cellule epiteliali atipiche nel derma. Le cellule hanno citoplasma eosinofilo. L'atipia appare moderata, a volte marcata, con nuclei di grandi dimensioni, irregolari, ipercromatici. Presenza di mitosi. Stroma infiammatorio tra i nidi, con infiltrato infiammatorio.

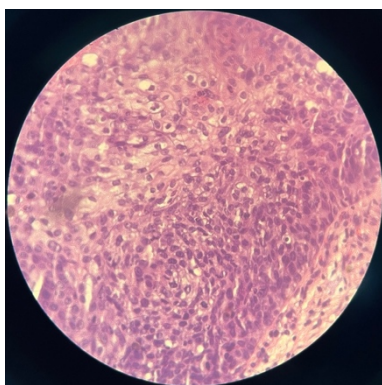


Figura 45: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 40x): cellule epiteliali atipiche squamose, con citoplasma eosinofilo, cheratinizzazione focale individuale con discheratosi. Atipia nucleare moderata/marcata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata/marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti;
- Stroma: infiammatorio.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 3.5 mm;
- Dimensione radiale massima: 11 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa/assente;



-Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 727

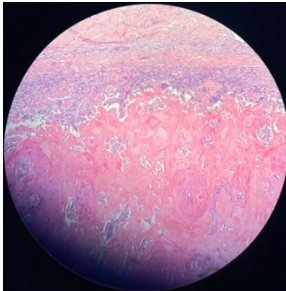


Figura 46: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: abbondante materiale eosinofilo cheratinizzato, con marcata cheratinizzazione. Stroma fibroso, con componente infiammatoria. La lesione squamosa appare ben differenziata.

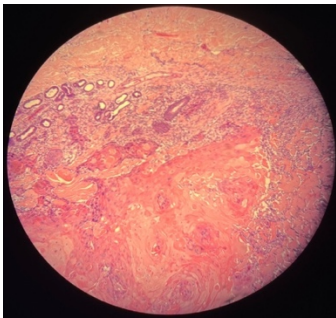


Figura 47: Carcinoma squamoso della cute insorto su cheratoacantoma (ematossilina-eosina, 10x): Proliferazione squamosa cheratinizzante, con ampie aree eosinofile e perle cornee ben riconoscibili. Nella parte superficiale si vedono annessi cutanei e strutture ghiandolari o follicolari. I margini di accrescimento appaiono prevalentemente espansivi. La reazione linfocitaria è modesta.

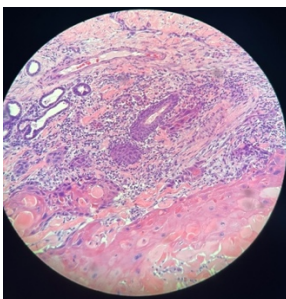


Figura 48: Carcinoma squamoso cutaneo, insorto su cheratoacantoma (ematossilina-eosina, 20x): cordoni di cellule squamose atipiche nel derma, con citoplasma eosinofilo e cheratinizzante. Cheratinizzazione marcata. Infiltrato infiammatorio peritumorale modesto.

Lo stroma appare fibroso e desmoplastico attorno ai nidi tumorali.

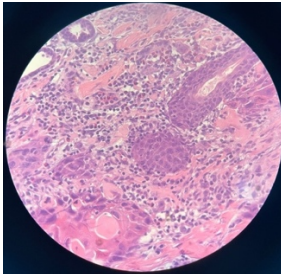


Figura 49: Carcinoma squamoso cutaneo, insorto su cheratoacantoma (ematossilina-eosina, 40x): nidi e cordoni di cellule squamose atipiche nel derma. Le cellule hanno citoplasma eosinofilo abbondante. Lo stroma è fibroso e desmoplastico. (Figura 49).

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare lieve;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 11 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: modesta;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 732

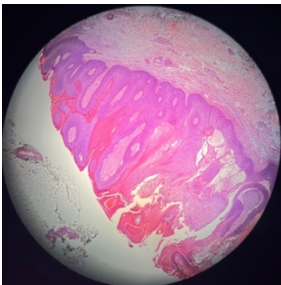


Figura 50: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: architettura endofitico e infiltrativa nel derma. Epidermide marcatamente ispessita e acantotica. Proliferazione squamosa ben evidente. Presenza di cheratina superficiale.

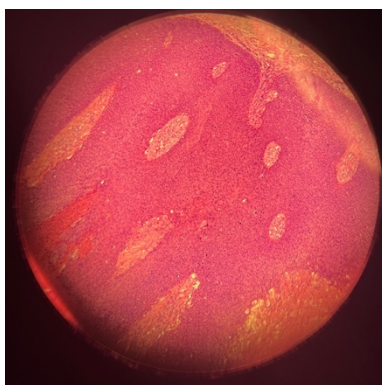


Figura 51: Carcinoma squamoso della cute in situ (ematossilina-eosina, 10x): nidi e cordoni di cellule squamose compatti, immersi nello stroma dermico. Cheratinizzazione intratumorale evidente. La lesione appare ben differenziata, con margine di accrescimento prevalentemente espansivi. Lo stroma appare fibroso e reattivo, con infiltrato infiammatorio moderato.

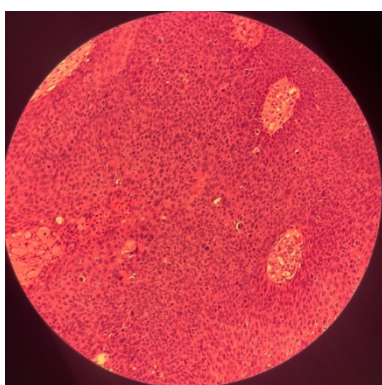


Figura 52: Carcinoma squamoso cutaneo in situ (ematossilina-eosina, 20x): proliferazione di cellule squamose atipiche, in nidi e cordoni. Cheratinizzazione intratumorale con cellule discheratosiche. Le cellule mostrano citoplasma eosinofilo. I nuclei sono aumentati di dimensioni, ipercromatici e irregolari. L'atipia nucleare quindi risulta moderata, a tratti marcata.

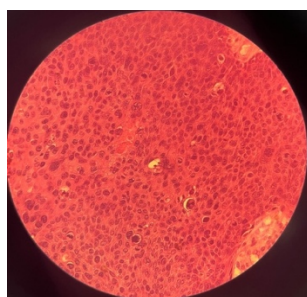


Figura 53: Carcinoma squamoso cutaneo in situ (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose con citoplasma eosinofilo abbondante. Cheratinizzazione individuale e cellule con



discheratosi. Nuclei aumentati di dimensioni, ipercromatici, irregolari, con discreta variabilità di forma e dimensione; l'atipia nucleare è moderata/marcata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata/marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e reattivo.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 4 mm;
- Dimensione radiale massima: 9 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 962

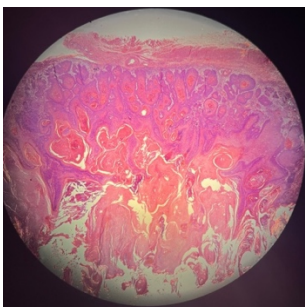


Figura 54: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale esofitica ed endofitica, con architettura lobulare e nodulare. Marcata cheratinizzazione, con numerose perle cornee. Proliferazione di nidi e cordoni epiteliali che scendono nel derma. La componente tumorale suggerisce un tumore ben/moderatamente differenziato. I margini di accrescimento sono infiltrativi.

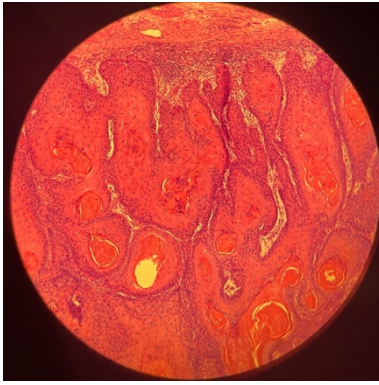


Figura 55: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 10x): nidi e cordoni cellulari atipiche nel derma. Abbondante cheratinizzazione, con numerose perle cornee. Presenza di reazione infiammatoria linfocitaria peritumorale modesta.

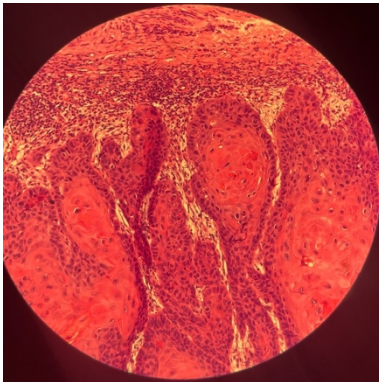


Figura 56: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nidi e cordoni tumorali che si estendono nel derma. L'atipia nucleare appare moderata, con nuclei aumentati di dimensioni, ipercromatici. Reazione infiammatoria linfocitaria modesta.

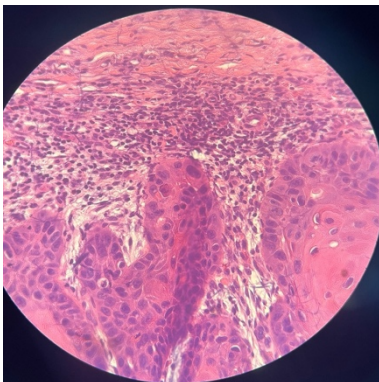


Figura 57: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose con citoplasma eosinofilo abbondante. Cheratinizzazione evidente. Atipia nucleare moderata. Stroma superficiale con infiltrato infiammatorio modesto.

Descrizione morfologica dettagliata:

- cellule: atipia nucleare moderata;
- citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- mitosi: rare;
- stroma: infiammato.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 3 mm;
- Dimensione radiale massima: 11 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: modesta;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.

- Caso 1230

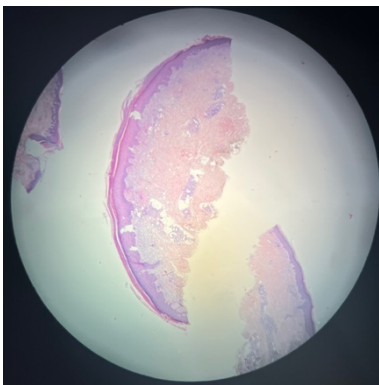


Figura 58: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: epidermide ispessita con ipercheratosi.

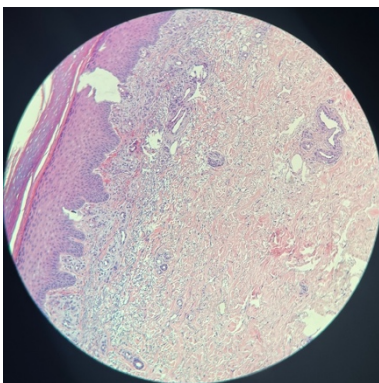


Figura 59: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 10x): epidermide ispessita con ipercheratosi. Nel derma sottostante si osserva fibrosi e collagene, con annessi cutanei e follicoli.

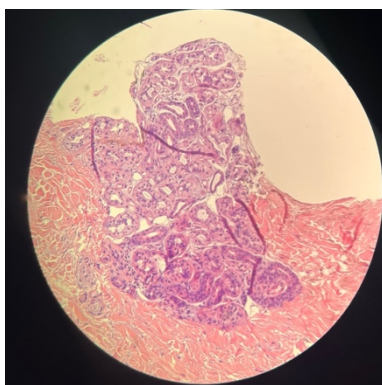


Figura 60: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): si osservano nidi epiteliali nel derma. L'atipia nucleare appare lieve. I margini di accrescimento sono infiltrativi, i nidi si insinuano nello stroma dermico.

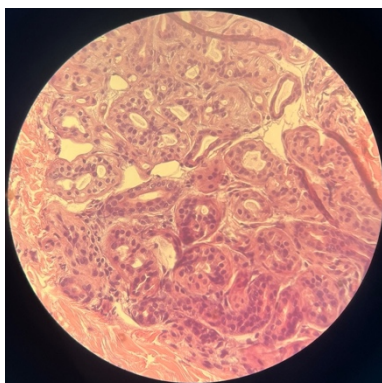


Figura 61: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 40x): nidi e cordoni epiteliali dermici. Atipia nucleare lieve.

#### Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare lieve;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso.

#### Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 1.5 mm;
- Dimensione radiale massima: 7 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa/assente;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.

- Caso 1426

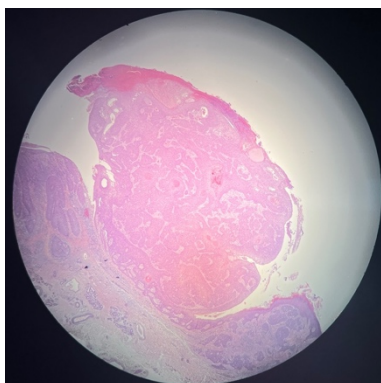


Figura 62: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione esofitica, con proliferazione epiteliale squamosa. Presenza di cheratinizzazione e perle cornee. La superficie appare ulcerata. I margini di accrescimento appaiono infiltrativi e il derma circostante mostra reazione infiammatoria moderata.

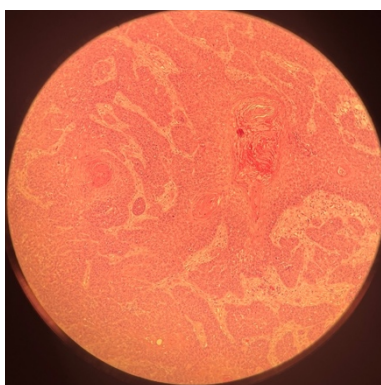


Figura 63: Carcinoma squamoso ulcerato della cute (ematossilina-eosina, 10x): nidi e cordoni epiteliali squamosi immersi in stroma fibroso e desmoplastico. Cheratinizzazione evidente con perle cornee, che orienta il carcinoma verso un tumore moderatamente differenziato.

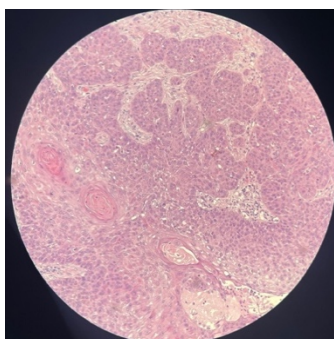


Figura 64: Carcinoma squamoso ulcerato cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): cellule squamose atipiche in nidi, con cheratinizzazione intratumorale. Cellule tumorali poligonali con citoplasma eosinofilo. L'atipia nucleare è moderata, con nuclei ingranditi, variabilità in

forma e dimensione, ipercromasia. Lo stroma è fibroso e desmoplastico, con reazione linfocitaria moderata.

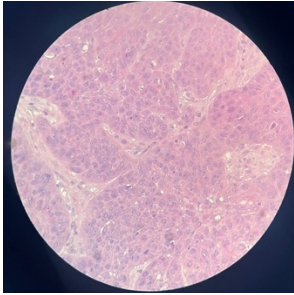


Figura 65: Carcinoma squamoso ulcerato cutaneo (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose poligonali, con citoplasma abbondante eosinofilo. Atipia nucleare moderata. Presenza di cheratinizzazione individuale. Stroma fibroso tra i nidi tumorali, con infiltrato infiammatorio moderato.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti;
- Stroma: fibroso.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 6 mm;
- Dimensione radiale massima: 8 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.



- Caso 1492

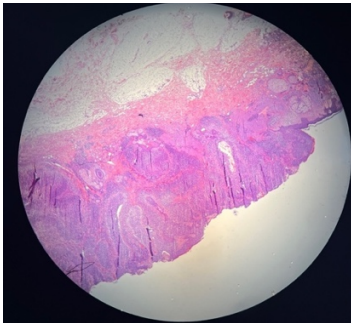


Figura 66: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea esofitico-infiltrativa. Epidermide ispessita e irregolare, con proliferazione squamosa che scende nel derma. Presenza di nidi e lobuli tumorali cheratinizzanti nel derma. La componente tumorale appare moderatamente differenziata. Nel derma circostante si nota stroma fibroso e infiammatorio con infiltrato linfocitario marcato.

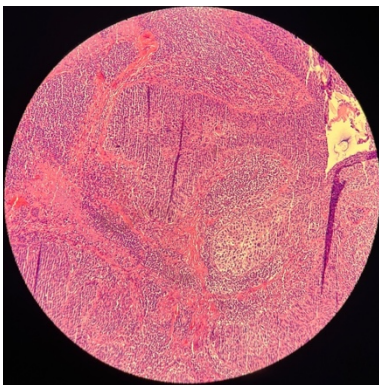


Figura 67: Carcinoma squamocellulare della cute focalmente cheratinizzante ad aspetti basaloidi (ematossilina-eosina, 10x): proliferazione squamosa invasiva a nidi nel derma. Cheratinizzazione evidente con perle cornee. Infiltrato infiammatorio linfocitario evidente, marcato.

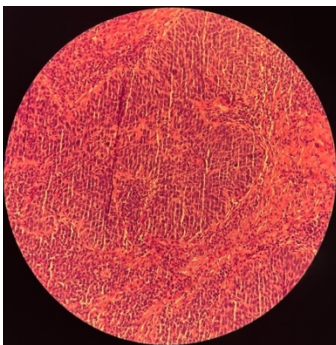


Figura 68: Carcinoma squamoso cutaneo focalmente cheratinizzante ad aspetti basaloidi (ematossilina-eosina, 20x): nidi di cellule squamose atipiche nel derma. Atipia nucleare

moderata/marcata, nuclei aumentati di volume, ipercromatici, irregolari, con discreta variabilità nucleare. Stroma reattivo e fibroso tra i nidi tumorali, con infiltrato infiammatorio linfocitario evidente.

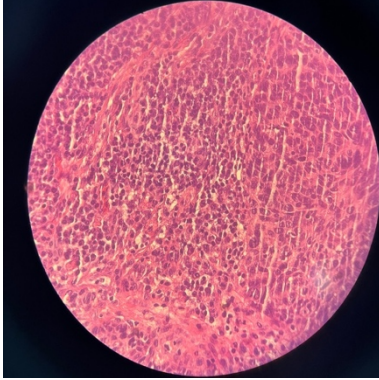


Figura 69: Carcinoma squamoso della cute focalmente cheratinizzazione ad aspetti basaloidi (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose disposte in nidi compatti. Atipia nucleare moderata/marcata, cheratinizzazione presente, infiltrato linfocitario evidente, soprattutto tra i nidi tumorali, marcato.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata/marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti;
- Stroma: fibroso e reattivo;

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.



- Caso 1497

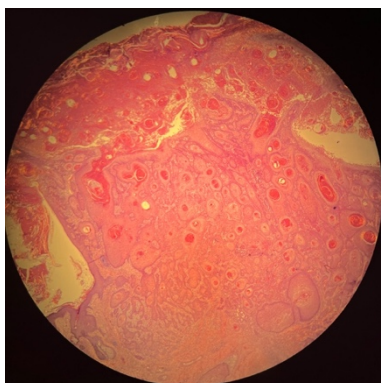


Figura 70: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea cheratinizzante, esofitica e infiltrativa. Epidermide irregolare, ispessita e acantotica, con superficie ipercheratosica. Proliferazione squamosa che scende nel derma in cordoni e nidi. Presenza di cheratinizzazione abbondante.

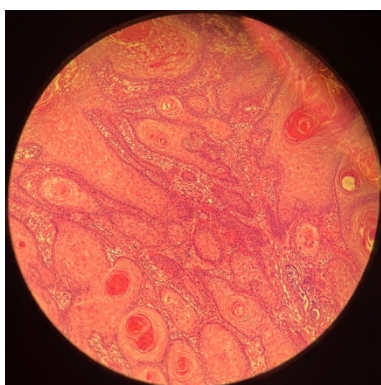


Figura 71: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): si osserva proliferazione squamosa invasiva con abbondante cheratinizzazione. Architettura compatibile con un tumore moderatamente differenziato. L'atipia nucleare appare moderata, e nello stroma è presente una reazione infiammatoria linfocitaria moderata.

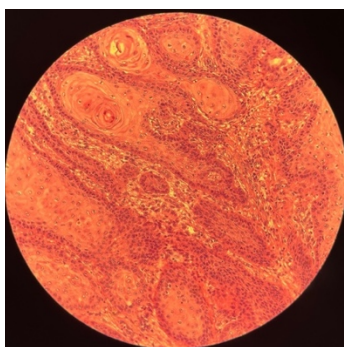


Figura 72: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nidi e cordoni di cellule squamose atipiche nel derma. Atipia nucleare moderata/marcata con nuclei aumentati,

irregolari, ipercromatici. Reazione stromale e infiammatoria moderata. Il pattern di crescita appare infiltrativo.

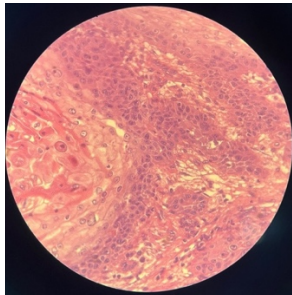


Figura 73: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose atipiche disposte in nidi. Citoplasma eosinofilo abbondante, cheratinizzazione focale evidente. Atipia nucleare moderata/marcata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata/marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: infiammatorio e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.

- Caso 1605

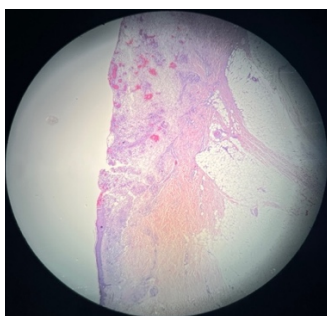


Figura 74: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: epidermide irregolare, derma coinvolto in proliferazione epiteliale, con nidi che scendono nel derma. In superficie si osserva ulcerazione.

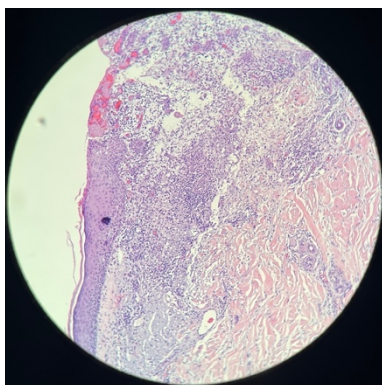


Figura 75: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): superficie ulcerata, con materiale infiammatorio al di sotto. Nel derma si osservano aggregati e cordoni di cellule epiteliali atipiche. Si osserva stroma desmoplastico e fibroso, che circonda nidi tumorali.

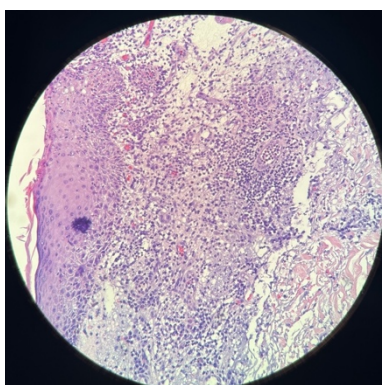


Figura 76: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nidi e cordoni di cellule epiteliali squamose, immersi in uno stroma fibroso e desmoplastico, con intensa componente infiammatoria. L'atopia nucleare appare moderata/marcata, nuclei ingranditi, ipercromatici e

irregolari. La cheratinizzazione non è abbondante, compatibile con un tumore moderatamente differenziato. La reazione linfocitaria è intensa, soprattutto attorno ai nidi tumorali.

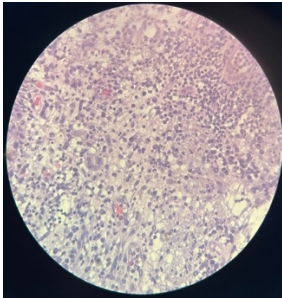


Figura 77: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule epiteliali atipiche immerse in uno stroma infiammato e desmoplastico. I nuclei sono ingranditi e ipercromatici, quindi l'atipia è moderata/marcata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata/marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: infiammato e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 1 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: intensa;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 1606

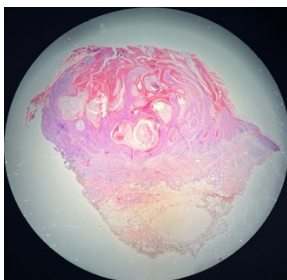


Figura 78: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea epiteliali squamosa, a crescita esofitica ed endofitica. Marcata cheratinizzazione superficiale e intratumorale, con perle cornee evidenti.

Proliferazione di nidi che scendono nel derma. Architettura con margini prevalentemente espansivi. Il derma sottostante presenta stroma fibroso e desmoplastico.

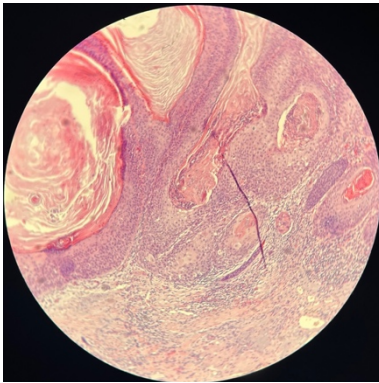


Figura 79: Carcinoma squamocellulare in situ della cute (ematossilina-eosina, 10x): si osservano nidi di cellule squamose atipiche nel derma, abbondante cheratinizzazione e perle cornee. Carcinoma ben/moderatamente differenziato. Stroma fibroso e desmoplastico attorno ai nidi tumorali. Reazione infiammatoria linfocitaria moderata.

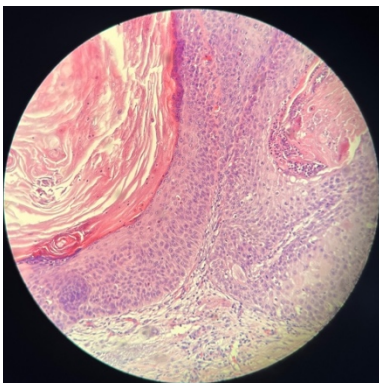


Figura 80: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): proliferazione di cellule squamose, cheratinizzazione abbondante, cellule con citoplasma eosinofilo. Atipia nucleare moderata e presenza di mitosi. Stroma circostante fibroso con infiltrato infiammatorio moderato.

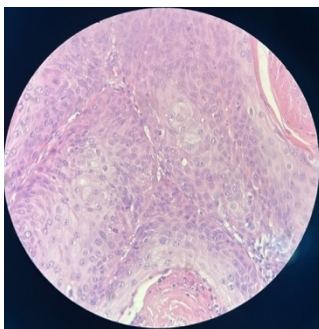


Figura 81: Carcinoma squamoso in situ della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose con maturazione cheratinizzante. Citoplasma abbondante eosinofilo, con cheratinizzazione individuale. Atipia nucleare moderata e mitosi presenti. Reazione linfocitaria peritumorale moderato.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 3 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 2086

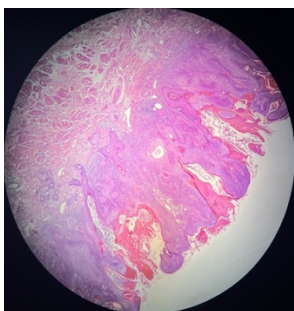


Figura 82: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea epiteliale squamosa esofitica. Epidermide ispessita con



proliferazione squamosa irregolare. Aree cheratinizzanti, con materiale eosinofilo, cheratinico superficiale. Il derma presenta reazione stromale e infiammatoria evidente.

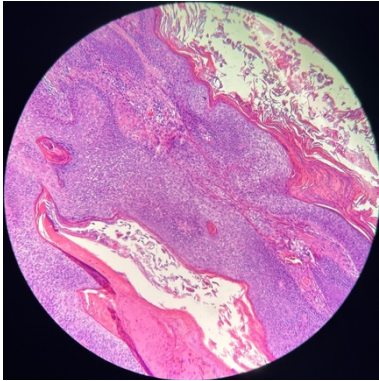


Figura 83: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): proliferazione squamosa cheratinizzante. Epitelio ispessito e acantotico, cheratinizzazione abbondante. Presenza di nidi squamosi che scendono nel derma. La crescita appare a margini prevalentemente espansivi. Lo stroma è reattivo e infiammatorio, con reazione linfocitaria moderata. L'atipia nucleare appare moderata.

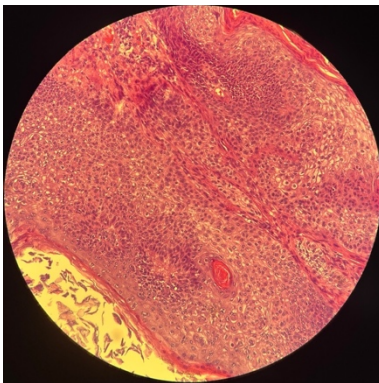


Figura 84: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nidi e lobuli di cellule squamose atipiche nel derma. Cheratinizzazione evidente, con perle cornee. Cellule con citoplasma eosinofilo abbondante. Atipia nucleare moderata e reazione infiammatoria stromale moderata. I margini di accrescimento sembrano prevalentemente espansivi, e grado di differenziazione moderato.

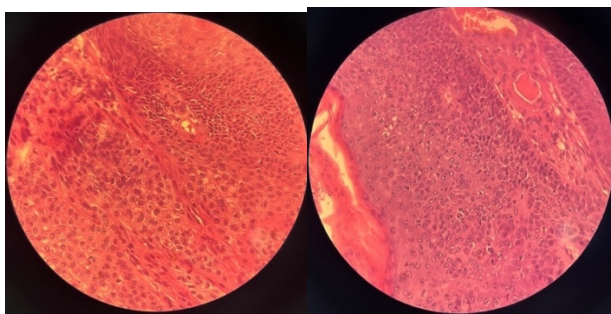


Figura 85: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose neoplastiche in nidi, con citoplasma eosinofilo. Cheratinizzazione presente. Atipia nucleare moderata, nuclei aumentati di volume, irregolari, ipercromatici, con variabilità di forma e dimensione. Stroma fibroso e desmoplastico con infiltrato infiammatorio moderato.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e desmoplastico;

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 9 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 2090

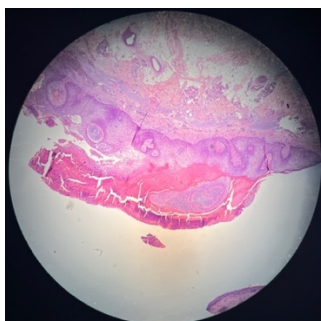


Figura 86: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: proliferazione epiteliale squamosa esofitico ed endofitica, in continuità con l'epidermide, che forma ampie digitazioni e nidi nel derma. Presenza di marcata



cheratinizzazione centrale, con perle cornee. L'accrescimento appare infiltrativo. Nel derma circostante si vede stroma fibroso e infiammatorio con reazione intensa. La superficie presenta ulcerazione.

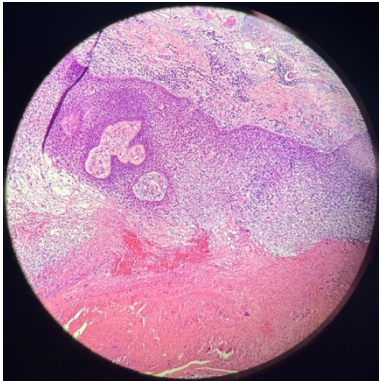


Figura 87: Carcinoma squamocellulare in situ della cute (ematossilina-eosina, 10x): Proliferazione squamosa cheratinizzante. Ampio nido epiteliale squamoso nel derma, composto da cellule poligonali con citoplasma eosinofilo. Cheratinizzazione centrale evidente con perle cornee. Stroma dermico fibroso, desmoplastico e infiammatorio attorno alla proliferazione. Infiltrato linfocitario peritumorale discreto-moderato. L'atipia nucleare è moderata.

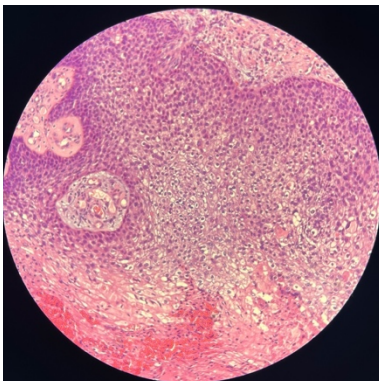


Figura 88: Carcinoma squamoso in situ cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): proliferazioni squamose atipiche in nidi, presenza di cheratinizzazione evidente con perle cornee. Le cellule mostrano citoplasma eosinofilo abbondante. L'atipia nucleare appare moderata, nuclei aumentati di volume, ipercromasia variabile. La crescita appare infiltrativa. Lo stroma è fibroso e desmoplastico con componente infiammatoria. La reazione linfocitaria è intensa.

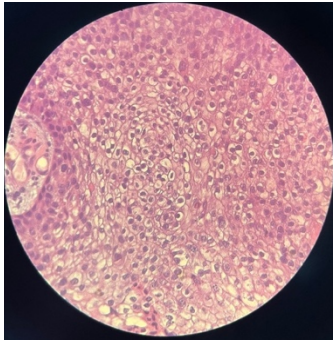


Figura 89: Carcinoma squamoso in situ della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule tumorali poligonali, con citoplasma abbondante eosinofilo. Presenza di cheratinizzazione individuale. Atipia nucleare moderata e mitosi frequenti.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: frequenti;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 9 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: intensa;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.

- Caso 2208

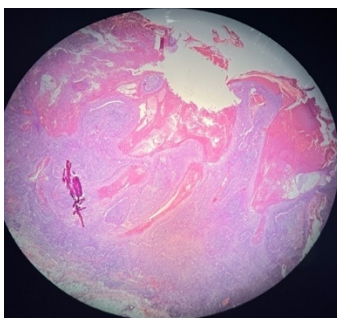


Figura 90: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea epiteliale invasiva, compatibile con un carcinoma cheratinizzante. Architettura esofitica ed endofitica, la lesione cresce verso il derma, con nidi epiteliali. Marcata cheratinizzazione e perle cornee. Superficie irregolare e ulcerata nella zona

centrale e superiore. Margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Lo stroma appare reattivo e infiammatorio.

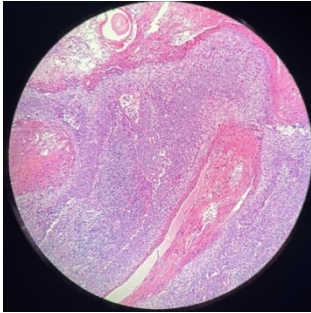


Figura 91: Carcinoma squamocellulare cheratinizzante della cute (ematossilina-eosina, 10x): proliferazione squamocellulare invasiva cheratinizzante. Nidi tumorali squamosi nel derma, con citoplasma eosinofilo. Cheratinizzazione evidente e perle cornee. Atipia nucleare moderata e reazione infiammatoria stromale moderata.

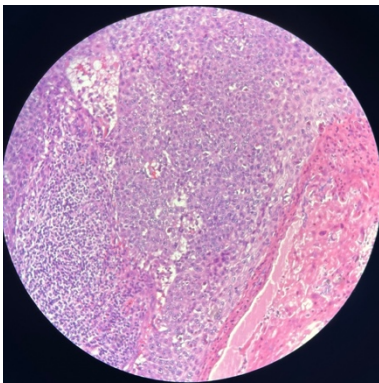


Figura 92: Carcinoma squamoso cutaneo cheratinizzante (ematossilina-eosina, 20x): nidi di cellule squamose atipiche nel derma. Cheratinizzazione presente con materiale eosinofilo compatto. Atipia nucleare moderata e rapporto nucleo/citoplasma non elevato con questo ingrandimento. Infiltrato infiammatorio peritumorale moderato. Il margine del nido tumorale appare compatto, quindi il pattern di crescita è prevalentemente espansivo.

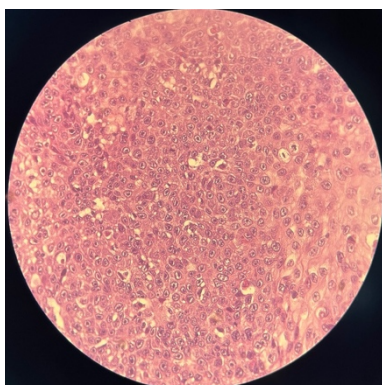


Figura 93: Carcinoma squamoso cheratinizzante della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose con citoplasma abbondante eosinofilo. Atipia nucleare moderata. Cheratinizzazione focale e intratumorale con citoplasma cellulare più denso. Le cellule appaiono discheratosiche.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo, denso;
- Mitosi: rare;
- Stroma: reattivo e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 3 mm;
- Dimensione radiale massima: 17 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 2261

Vetrino non archiviato.

- Caso 2463

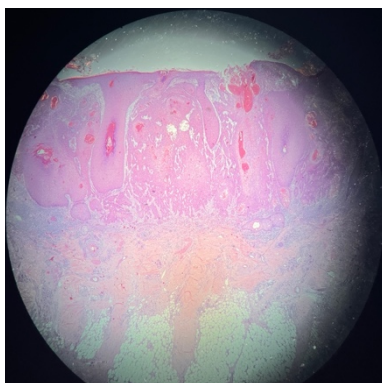


Figura 94: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea esofitica ed endofitica epiteliale. Epidermide ispessita con proliferazione squamosa che scende nel derma. Presenza di grossi nidi tumorali squamosi nel derma superficiale-medio. Si osserva cheratinizzazione intratumorale, con perle cornee. In superficie si osserva zona irregolare corrispondente a ulcerazione. Il derma sottostante presenta stroma fibroso e desmoplastico. Il grado di differenziazione risulta G1.

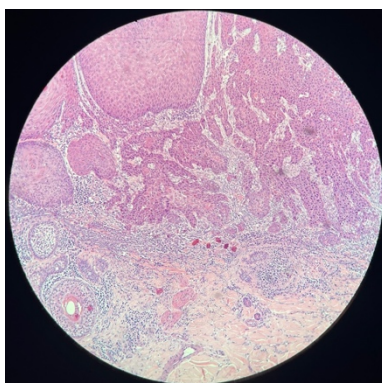


Figura 95: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): si osservano meglio i nidi di cellule squamose che infiltrano il derma. Presenza di cheratinizzazione evidente, sottoforma di aree eosinofile e perle cornee. Le cellule tumorali mostrano comunque una differenziazione conservata, compatibile con G1. L'atipia in questo ingrandimento sembra moderata. I margini di accrescimento sono prevalentemente espansivi, con nidi irregolari immersi nello stroma. Lo stroma appare fibroso e desmoplastico, con infiltrato infiammatorio presente.

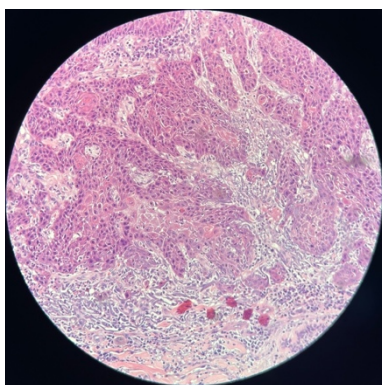


Figura 96: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): si osservano meglio i nidi irregolari di cellule squamose immersi nello stroma fibroso. È ancora evidente la cheratinizzazione e le perle cornee. L'atipia nucleare è moderata/marcata, con nuclei ingranditi e ipercromatici. L'infiltrato infiammatorio appare moderato in questo campo, ma scarso nell'intera zona peritumorale.

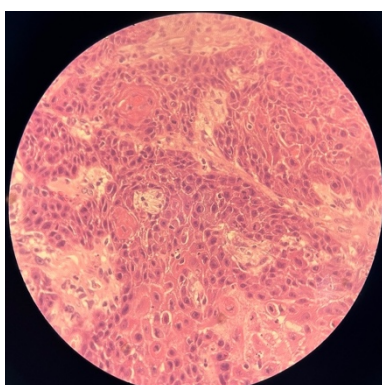


Figura 97: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose con abbondante citoplasma eosinofilo. Cheratinizzazione marcata con cellule discheratosiche. Atipia nucleare moderata-marcata, nuclei ingranditi, irregolari e ipercromatici.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata/marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 9 mm;
- Invasione perineurale: assente;



- Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 2515

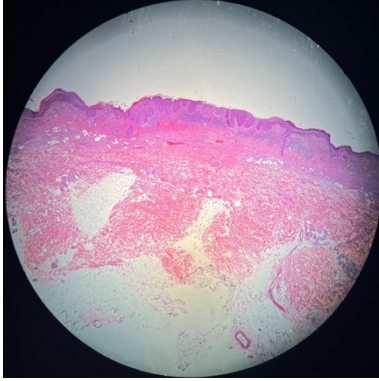


Figura 98: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: epidermide ispessita e acantotica. In alcuni punti si osservano prolungamenti epiteliali verso il derma. Il derma sottostante appare fibroso e infiammatorio. La reazione linfocitaria peritumorale sembra moderata.

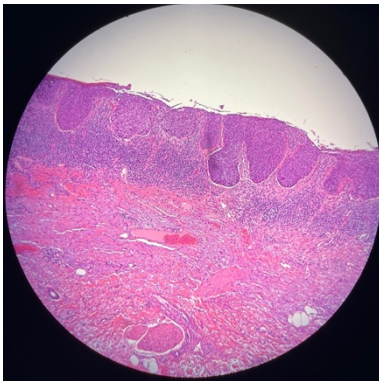


Figura 99: Carcinoma squamocellulare cheratinizzante della cute (ematossilina-eosina, 10x): lesione epiteliale squamosa esofitica ed endofitica, con epidermide ispessita e acantotica, con margini lobulati che scendono nel derma. I margini di accrescimento appaiono espansivi. La cheratinizzazione è presente. In questo campo si osserva una reazione linfocitaria peritumorale almeno moderata.

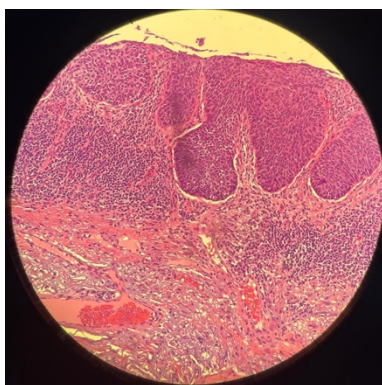


Figura 100: Carcinoma squamoso cheratinizzante cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): si osservano nidi epiteliali squamosi che scendono nel derma, continui con l'epidermide superficiale. Si intravede l'atipia nucleare almeno moderata, con nuclei aumentati di volume, ipercromasia variabile. La differenziazione squamosa è compatibile con grado G2. La reazione linfocitaria è moderata, con addensamento di linfociti tra i nidi tumorali.

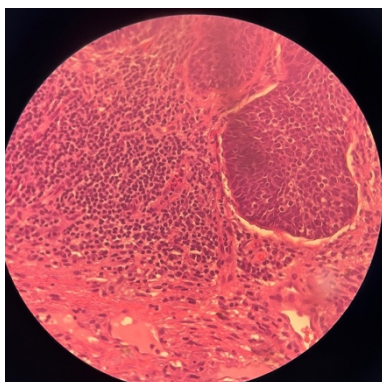


Figura 101: Carcinoma squamoso cheratinizzante della cute (ematossilina-eosina, 40x): si osservano meglio i nidi irregolari di cellule squamose immersi nello stroma fibroso. È ancora evidente la cheratinizzazione e le perle cornee. L'atipia nucleare è moderata/marcata, con nuclei ingranditi e ipercromatici. L'infiltrato infiammatorio appare moderato in questo campo, ma scarso nell'intera zona peritumorale.

#### Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata/marcata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo, con aspetto squamoide;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso.

#### Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 0.8 mm;



- Dimensione radiale massima: 12 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 2792

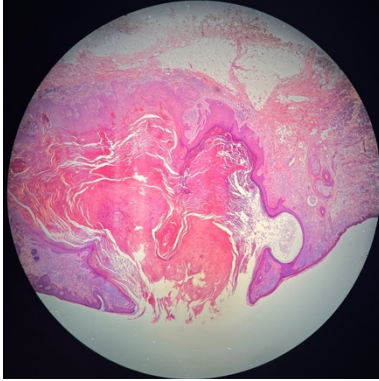


Figura 102: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione esofitica molto cheratinizzante, con una grande massa centrale di cheratina compatta lamellare. L'epitelio ai margini appare acantotico e ispessito, con proliferazione squamosa che scende nel derma. I margini di accrescimento sono ampi, lobulati ed espansivi. Nel derma circostante si osserva stroma fibroso e infiammatorio.

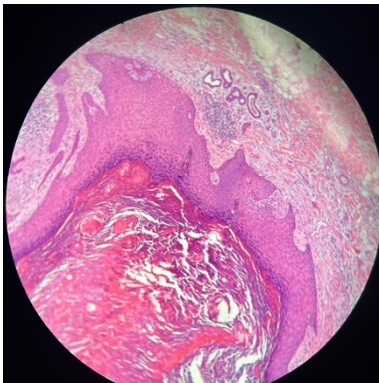


Figura 103: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): proliferazione squamosa ben differenziata/cheratinizzante, con epitelio ispessito e maturazione squamosa evidente. In basso si osserva la cheratina lamellare compatta.

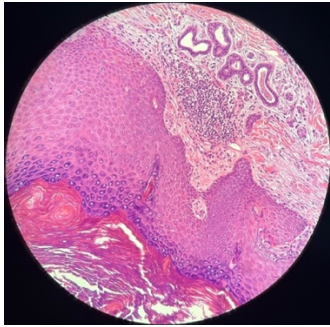


Figura 104: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): proliferazione composta da cellule squamose mature, con citoplasma eosinofilo. La cheratinizzazione è abbondante, con presenza di perle cornee. L'atipia nucleare appare lieve-moderata, con nuclei aumentati di volume, ma senza pleomorfismo marcato diffuso. Il grado di differenziazione appare G1. I margini di accrescimento sono espansivi.

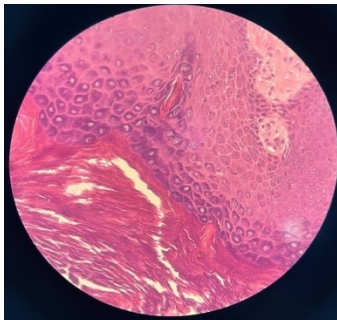


Figura 105: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 40x): è presente cheratinizzazione marcata. L'atipia nucleare appare lieve-moderata. In questo campo il fronte appare composto da cellule coese e mature.

#### Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare lieve-moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso.

#### Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 7 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 2793

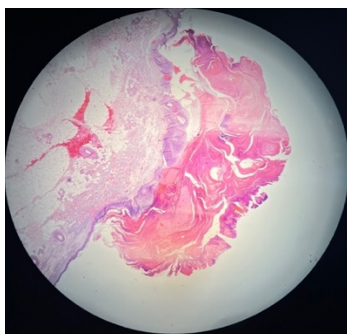


Figura 106: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea esofitica, molto cheratinizzante, con masse eosinofile compatibili con ipercheratosi marcata. L'epidermide appare ispessita e acantotica. La cheratinizzazione è abbondante.

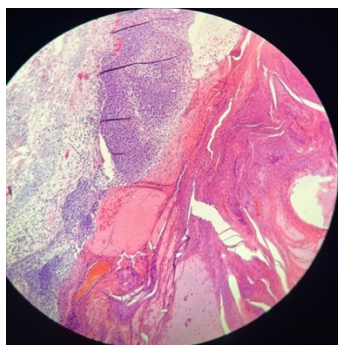


Figura 107: Carcinoma squamocellulare in situ della cute, insorto su cheratosi attinica (ematossilina-eosina, 10x): marcata cheratinizzazione. Alla base ci sono nidi epiteliali che scendono nel derma, ma i margini di accrescimento sono prevalentemente espansivi. Si osserva una reazione infiammatoria stromale peritumorale, almeno moderata.

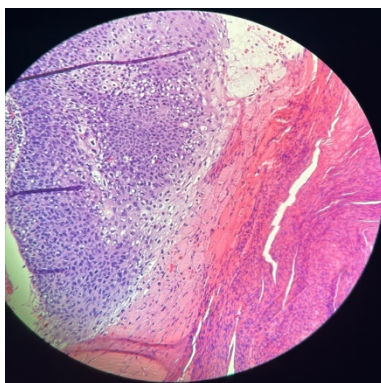


Figura 108: Carcinoma squamoso cutaneo in situ, insorto su cheratosi attinica (ematossilina-eosina, 20x): nidi cellulari squamose, con maturazione verso cheratina. Citoplasma abbondante ed eosinofilo in molte cellule, con cheratinizzazione individuale. L'atipia

nucleare appare moderata, con nuclei aumentati di volume e irregolari. Lo stroma è fibroso e infiammatorio, con infiltrato linfocitario moderato.

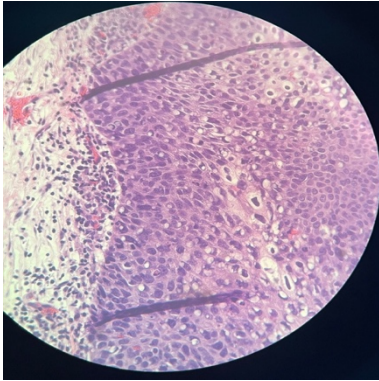


Figura 109: Carcinoma squamoso della cute in situ, insorto su cheratosi attinica (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose con citoplasma abbondante, eosinofilo e cheratinizzante. La maturazione appare conservata, con cellule più mature verso alcune aree centrali. L'atipia nucleare è moderata. La reazione linfocitaria peritumorale è moderata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo e cheratinizzante;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e infiammatorio.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 2 mm;
- Dimensione radiale massima: 5 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

- Caso 3050

Con le riserve imposte dalla superficialità e dall'orientamento subottimale:

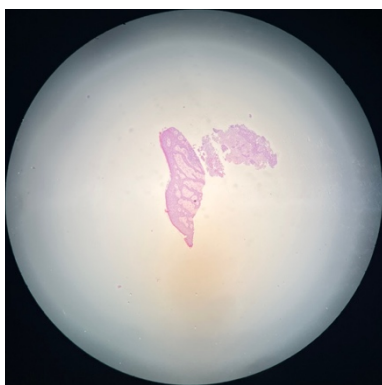


Figura 110: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: proliferazione epiteliale ed esofitica. Aree compatibili con cheratinizzazione e perle cornee.

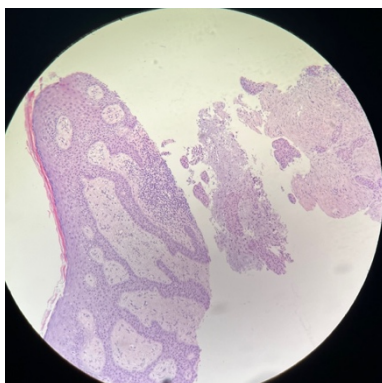


Figura 111: Carcinoma squamocellulare cutaneo (ematossilina-eosina, 10x): lesione epiteliale squamosa esofitica e papillare. Epitelio squamoso con acantosi. Cheratinizzazione superficiale evidente. Stroma fibroso. Reazione linfocitaria nel connettivo moderata.

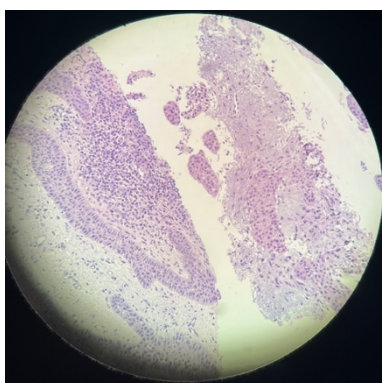


Figura 112: Carcinoma squamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nel frammento a sinistra si osserva una proliferazione squamosa ben differenziata. La componente infiammatoria linfocitaria nel connettivo è moderata.

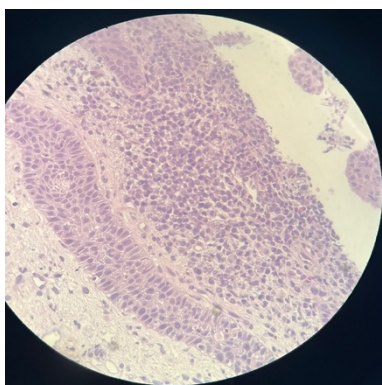


Figura 113: Carcinoma squamoso della cute (ematossilina-eosina, 40x): proliferazione squamosa ben differenziata, con cellule cheratinocitarie coese e con maturazione squamosa riconoscibile. L'atipia nucleare appare lieve-moderata, nuclei aumentati di volume e discretamente ipercromatici. La reazione infiammatoria linfocitaria abbondante nel connettivo.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare lieve-moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo e cheratinizzante;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso.

Fattori prognostici:

- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 3126

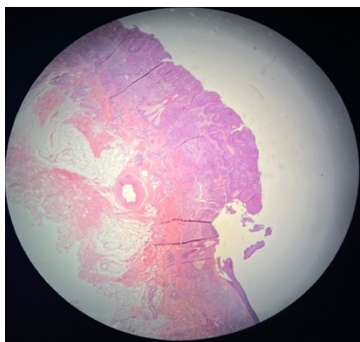


Figura 114: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale esofitica. Epidermide ispessita con architettura irregolare. Proliferazione epiteliale squamosa che scende nel derma in nidi.



Presenza di cheratinizzazione. Il derma sottostante appare fibroso e desmoplastico. I margini di accrescimento appaiono infiltrativi. È presente ulcerazione superficiale.

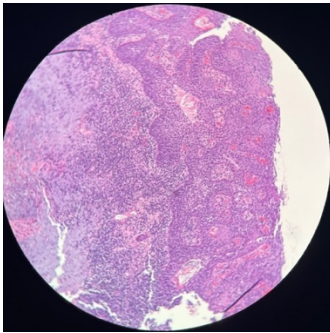


Figura 115: Carcinoma squamocellulare cutaneo in situ, focalmente infiltrante (ematossilina-eosina, 10x): proliferazione squamocellulare invasiva cheratinizzante. Nidi di cellule squamose nel derma. Cheratinizzazione evidente con perle cornee. Stroma reattivo e desmoplastico. Reazione linfocitaria peritumorale moderata.

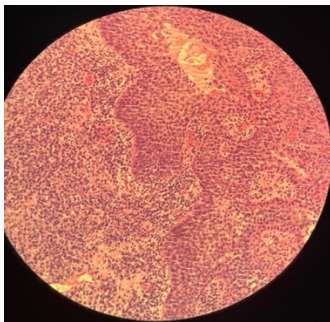


Figura 116: Carcinoma squamoso cutaneo in situ, focalmente infiltrante (ematossilina-eosina, 20x): citoplasma eosinofilo con perle cornee, delle cellule squamose. Atipia nucleare moderata, con nuclei aumentati di volume, ipercromatici e discreta variabilità. Reazione linfocitaria peritumorale moderata.

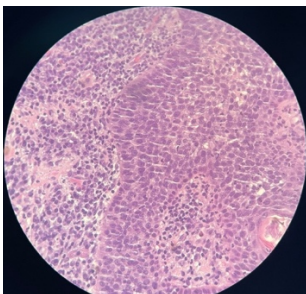


Figura 117: Carcinoma squamoso della cute in situ, focalmente infiltrante (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose organizzate in nidi, con citoplasma eosinofilo. Atipia nucleare

moderata, nuclei ingranditi, ipercromatici, con variabilità di forma e dimensione. Mitosi presenti ma non frequenti. Reazione linfocitaria moderata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: frequenti;
- Stroma: reattivo e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 1 mm;
- Dimensione radiale massima: 1 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.

- Caso 3519

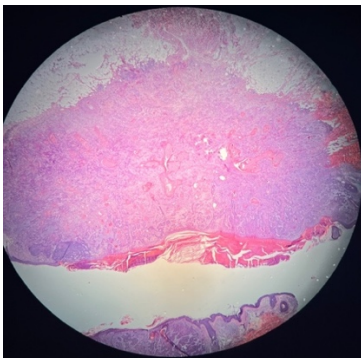


Figura 118: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione cutanea esofitica. Epidermide superficiale irregolare, con aree di ipercheratosi. Nidi epiteliali squamosi che scendono nel derma, con aree eosinofile compatibili con cheratinizzazione.



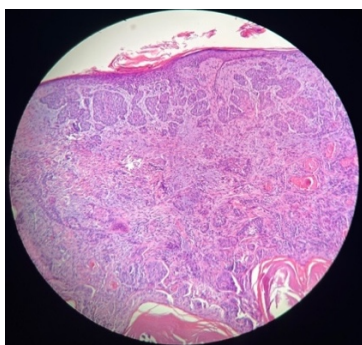


Figura 119: Carcinoma basosquamoso della cute (ematossilina-eosina, 10x): epidermide ispessita, con proliferazione squamosa verso il derma. Nel derma si osservano nidi di cellule tumorali immerse in uno stroma fibroso e desmoplastico. Si osservano aree di cheratinizzazione e perle cornee. La differenziazione è compatibile con grado G2. I margini di accrescimento sono infiltrativi.

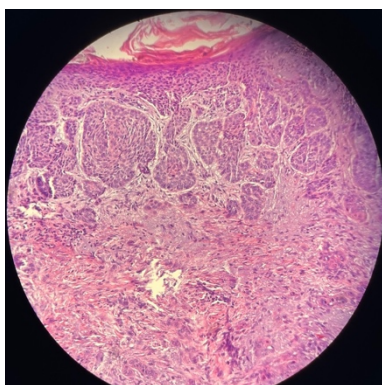


Figura 120: Carcinoma basosquamoso cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nidi di cellule squamose nel derma. Cheratinizzazione focale, in alcune isole tumorali più profonde. Stroma desmoplastico e fibroso tra i nidi tumorali, con reazione infiammatoria scarsa associata. Atipia nucleare moderata, nuclei ingranditi, ipercromatici, con variabilità di forma e dimensione. I margini appaiono infiltrativi e irregolari.

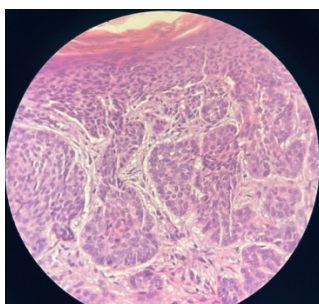


Figura 121: Carcinoma basosquamoso della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose disposte in nidi infiltranti nel derma. Si osservano ponti intercellulari e citoplasma eosinofilo. L'atipia nucleare è moderata.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti ma non frequenti;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 5 mm;
- Dimensione radiale massima: 7 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa;
- Margini di accrescimento: infiltrativi.

- Caso 3523

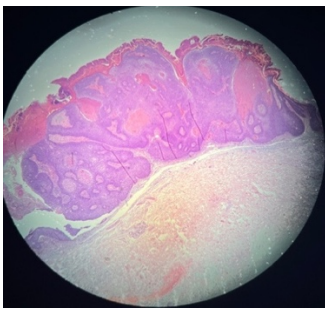


Figura 122: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale esofitica ed endofitica. Epidermide ispessita e irregolare, con superficie ipercheratosica. Proliferazione squamosa in continuità con l'epidermide, che forma grossi lobuli nel derma. All'interno dei nidi si osservano anche zone di cheratinizzazione e differenziazione squamosa. Il derma sottostante appare fibroso e desmoplastico.

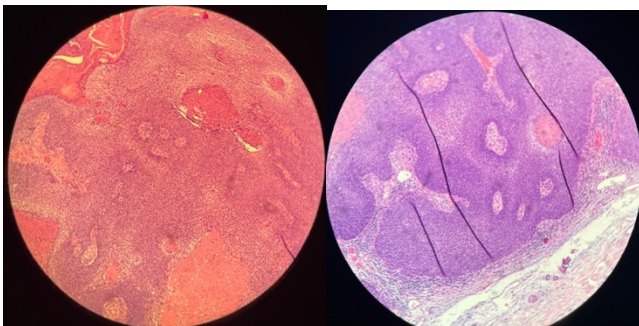


Figura 123: Carcinoma squamocellulare in situ della cute (ematossilina-eosina, 10x): lobuli di cellule squamose nel derma, in continuità con l'epidermide. Cheratinizzazione

intratumorale. Architettura espansiva. Lo stroma appare fibroso, con reazione linfocitaria peritumorale scarsa.

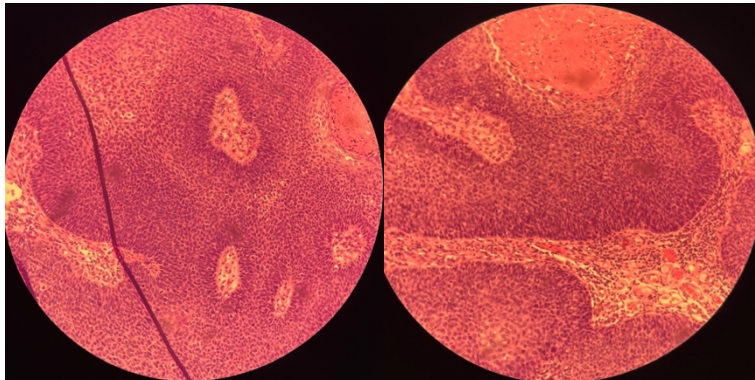


Figura 124: Carcinoma squamocellulare in situ cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): citoplasma eosinofilo con ponti intercellulari. Atipia nucleare moderata, con nuclei aumentati di volume, ipercromatici, con discreta variabilità di forma e dimensione.

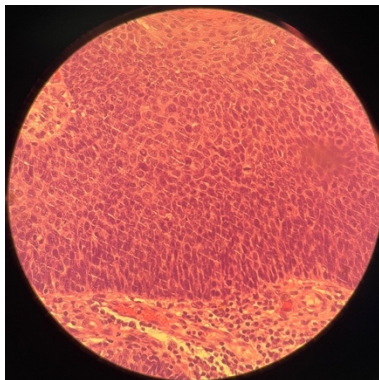


Figura 125: Carcinoma squamocellulare in situ della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose atipiche disposte in nidi compatti. Citoplasma eosinofilo evidente, con aspetto squamoide. Atipia nucleare moderata, con anisocariosi. Alla base del nido si vede stroma fibroso e infiammatorio.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: rare;
- Stroma: fibroso e infiammatorio.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 3 mm;

- Dimensione radiale massima: 8 mm;
- Invasione perineurale: assente;
- Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa;
- Margini di accrescimento: espansivi.

- Caso 3524

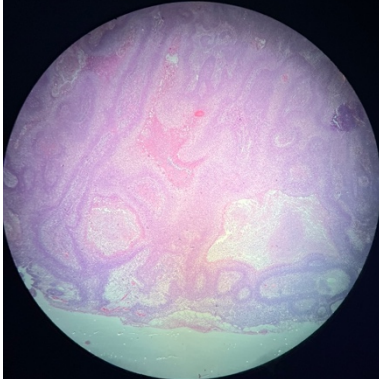


Figura 126: Lesione seriata lungo l'asse minore al microscopio ottico, ingrandimento 2.5x, colorazione H&E: lesione epiteliale esofitica ed endofitica. Epidermide ispessita e acantotica, con proliferazione squamosa verso il derma. Visibile cheratina con perle cornee. Stroma dermico reattivo, con fibrosi e desmoplasia. I margini sembrerebbero prevalentemente espansivi.

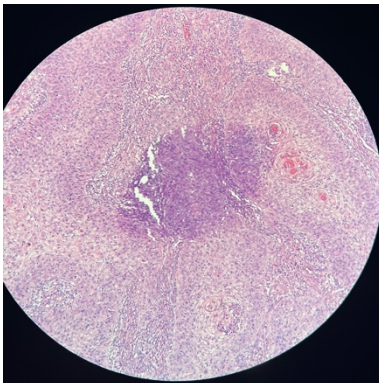


Figura 127: Carcinoma squamocellulare della cute (ematossilina-eosina, 10x): nidi di cellule squamose nel derma. Cheratinizzazione evidente, con numerose perle cornee. Stroma fibroso e desmoplastico tra i nidi tumorali, con componente infiammatoria moderata.

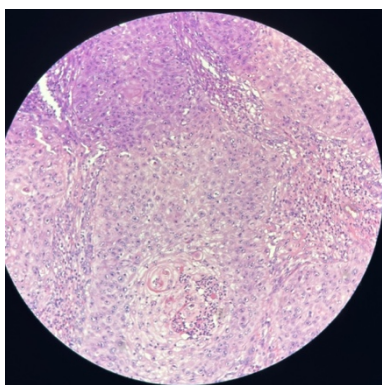


Figura 128: Carcinoma squamocellulare cutaneo (ematossilina-eosina, 20x): nidi di cellule squamose atipiche nel derma. Atipia nucleare moderata. Stroma desmoplastico e fibroso attorno ai nidi tumorali. Infiltrato infiammatorio peritumorale moderato. Margini di accrescimento prevalentemente espansivi.

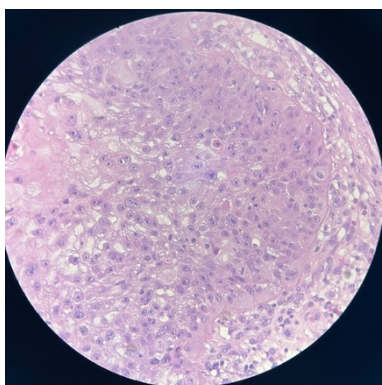


Figura 129: Carcinoma squamocellulare in situ della cute (ematossilina-eosina, 40x): cellule squamose con citoplasma eosinofilo abbondante. Cheratinizzazione individuale e maturazione squamosa presente. Ponti intercellulari con aspetto desmosomiale. Atipia nucleare moderata. Mitosi presenti ma non frequenti. Infiltrato infiammatorio moderato.

Descrizione morfologica dettagliata:

- Cellule: atipia nucleare moderata;
- Citoplasma: abbondante, eosinofilo;
- Mitosi: presenti ma non frequenti;
- Stroma: fibroso e desmoplastico.

Fattori prognostici:

- Spessore massimo di infiltrazione: 10 mm;
- Dimensione radiale massima: 20 mm;
- Invasione perineurale: assente;

- Reazione linfocitaria peritumorale: moderata;
- Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi.

### 3.6. Valutazione con Digital Pathology

#### 3.6.1. NanoZoomer S60

Nel presente studio, la digitalizzazione dei vetrini istologici è stata effettuata mediante lo scanner NanoZoomer S60 (Hamamatsu Photonics), uno strumento ad alta capacità progettato per la scansione automatizzata di vetrini istologici.

NanoZoomer S60 consente l'acquisizione di immagini digitali ad alta risoluzione, con ingrandimenti equivalenti alla microscopia ottica (fino a 40x), permettendo la visualizzazione dettagliata delle strutture cellulari e tissutali.

Il sistema è dotato di:

- Caricatore automatico di vetrini;
- Sistema ottico ad alta precisione;
- Software di acquisizione per la generazione di immagini digitali. (Figura 130).

Il processo di digitalizzazione dei vetrini istologici si articola nelle seguenti fasi:

1. Caricamento dei vetrini nello scanner;
2. Messa a fuoco automatica e identificazione dell'area di scansione;
3. Acquisizione dell'immagine mediante scansione progressiva dell'intero vetrino;
4. Generazione della Whole Slide Image (WSI);
5. Archiviazione digitale dell'immagine nel sistema informatico.

Le immagini ottenute sono navigabili in modo analogo alla microscopia ottica, con possibilità di zoom e spostamento sul campo visivo.





Figura 130: Scanner per Digital Pathology NanoZoomer S60, utilizzato per la digitalizzazione dei vetrini istologici.

Fasi di utilizzo:

1. Caricamento nello scanner:

- Si apre il cassetto o caricatore automatico;
- Si inseriscono i vetrini;
- Si chiude il cassetto;

NanoZoomer riconosce automaticamente codice a barre e posizione del vetrino.

2. Prescan (scansione a basso ingrandimento);

Lo strumento fa una prima scansione rapida a basso ingrandimento per identificare dove si trova il tessuto, evitare di scansionare zone vuote e definire l'area di interesse.

3. Autofocus automatico: calcolo dei diversi punti di messa a fuoco, regolazione automaticamente il piano focale.

Questo passaggio è fondamentale perché il vetrino può non essere perfettamente planare e il tessuto può avere spessori leggermente variabili.

4. Scansione ad alta risoluzione:

Il vetrino viene mosso meccanicamente sotto l'obiettivo (20x, 40x), che acquisisce più immagini contemporaneamente (20x:  $\cong 0,46 \mu\text{m/pixel}$ , 40x:  $\cong 0,23 \mu\text{m/pixel}$ ).



Le immagini vengono successivamente unite con il processo di tiling e stitching.

#### 5. Creazione del file digitale

Il sistema salva l'immagine in formato .ndpi (formato proprietario Hamamatsu).

#### 6. Archiviazione e visualizzazione

Il file viene salvato su server o PC e aperto con NDP.view.2.

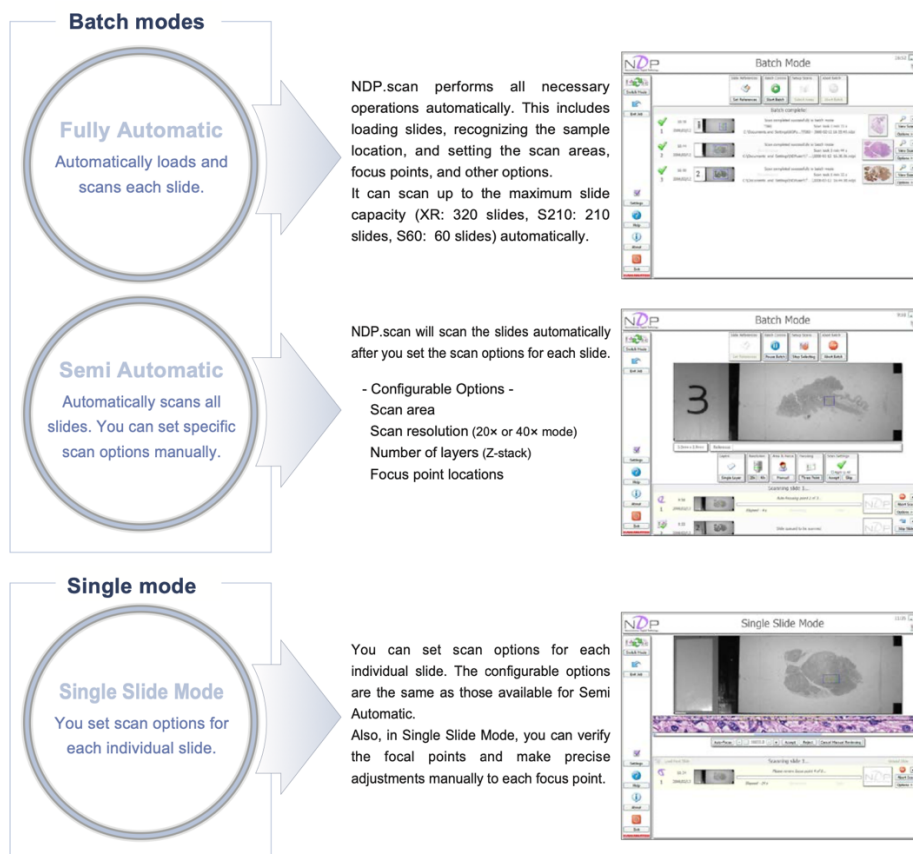
Il protocollo completo di utilizzo di NanoZoomer S60 si trova nel paragrafo 7.7.

#### 3.6.2. NDP.scan

Il software NDP.scan di acquisizione immagini di Hamamatsu per gli scanner di vetrini digitali NanoZoomer, serve a trasformare vetrini da microscopia in immagini digitali ad alta risoluzione. (whole slide images).

Il software controlla lo scanner, carica i vetrini, riconosce l'area del campione, imposta le aree di scansione, opzioni di qualità. (Figura 131).

[https://www.hamamatsu.com/content/dam/hamamatsu-photonics/sites/documents/99\\_SALES\\_LIBRARY/sys/SBIS0064E\\_NDPSCAN.pdf](https://www.hamamatsu.com/content/dam/hamamatsu-photonics/sites/documents/99_SALES_LIBRARY/sys/SBIS0064E_NDPSCAN.pdf)



**HAMAMATSU**

Figura 131: Il software permette di scansionare i vetrini con due modalità: Batch modes (insieme di vetrini), Single mode (singolo vetrino).

L'insieme di vetrini, fino a 60, può essere scansionato con modalità automatica: carica e scansiona automaticamente ogni vetrino; o semiautomatica: scansiona automaticamente tutti i vetrini, potendo selezionare manualmente opzioni di scansione specifiche.

Nella modalità automatica NDP.scan esegue automaticamente tutte le operazioni necessarie, caricamento dei vetrini, riconoscimento della posizione del campione e l'impostazione delle aree di scansione, dei punti di messa a fuoco.

Con la modalità semiautomatica, NDP.scan esegue la scansione automatica dei vetrini dopo aver impostato le opzioni di scansione manualmente: area di scansione, risoluzione di scansione (20x o 40x).

Con la modalità singola, è possibile impostare le opzioni di scansione per ogni singolo vetrino, le opzioni configurabili sono le stesse disponibili per la modalità semiautomatica.

### 3.6.3. NDP.view 2

Il software NDP.view.2 è un visualizzatore di immagini digitale sviluppato da Hamamatsu per la gestione delle immagini generate dagli scanner di vetrini della serie NanoZoomer.

Caratteristiche principali di NDP.view.2:

- Visualizzazione fluida delle immagini scansionate con NanoZoomer.
- Strumenti di navigazione avanzati, come zoom, panoramica e annotazioni.
- Misurazioni e analisi, inclusa la possibilità di valutare dimensioni di strutture tessutali.
- Compatibilità con diversi formati di file, tra cui il formato proprietario NDPI.
- Supporto per immagini multilivello e multicanale, utile per la visualizzazione di sezioni seriali o immagini fluorescenti.
- Facilità di condivisione e collaborazione, spesso usato in ricerca.  
<https://www.hamamatsu.com/jp/en/product/life-science-and-medical-systems/digital-slide-scanner/U12388-01.html>.

Il protocollo completo di utilizzo si trova nel paragrafo 7.8.

### 3.6.4. Parametri considerati e osservati

L'analisi è stata condotta iniziando da una valutazione panoramica, seguita da ingrandimenti progressivi per l'analisi dei dettagli istologici: visione panoramica, zoom progressivo, confronto tra aree.

Le misurazioni sono state effettuate mediante strumenti integrati nel software, garantendo maggiore precisione rispetto alla valutazione ottica tradizionale: spessore massimo di infiltrazione, dimensione radiale massima, area tumorale, (immagini: linea di misura, area evidenziata).

L'elevata risoluzione ha permesso una chiara identificazione dei dettagli nucleari e architetturali. (parametri istologici ma con taglio digitale: grading, atipia nucleare, cheratinizzazione, margini di accrescimento, invasione perineurale).

La visione globale del preparato ha facilitato la valutazione della distribuzione dell'infiltrato infiammatorio nel microambiente tumorale, e la presenza o assenza di angioinvasione (infiltrato infiammatorio e stroma).

Si possono osservare le schede standardizzate dei casi nel paragrafo 7.5.

- Caso 54:

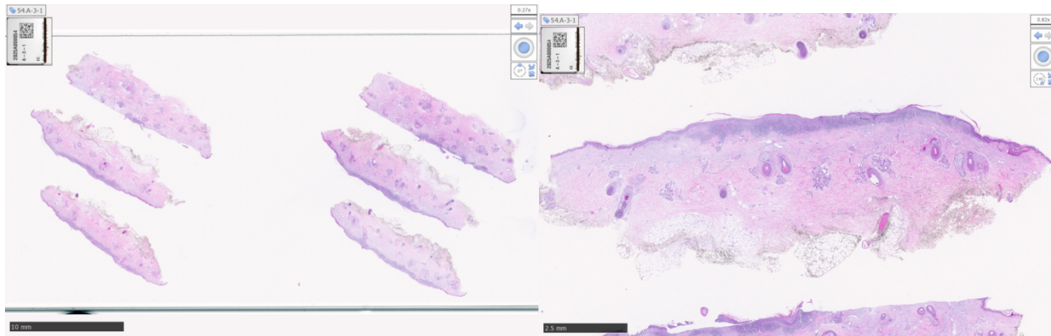


Figura 132: A destra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.27x. Colorazione H&E, a sinistra, preparato istologico a 0.82x. Colorazione H&E.

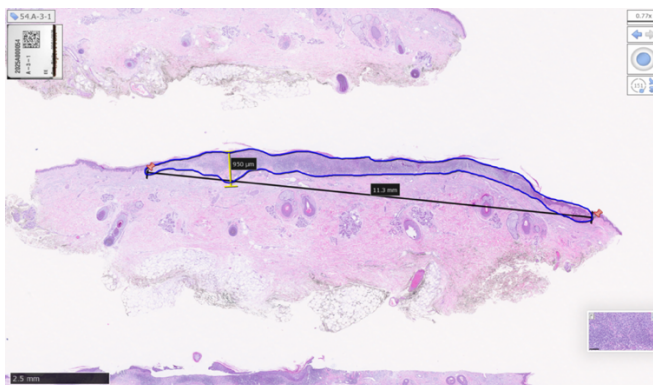


Figura 133: Preparato istologico a 0.77x con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: all'osservazione a basso ingrandimento, il preparato mostra una lesione epidermica superficiale piuttosto estesa, ispessimento dell'epidermide con colorazione basofila nel tratto superiore-centrale.

Si osserva superficie irregolare, con aree di ulcerazione superficiale.

Nel derma sottostante si osserva infiltrato infiammatorio evidente.

Nel derma medio-profondo si riconoscono annessi cutanei conservati e stroma fibroso. (Figura 134).

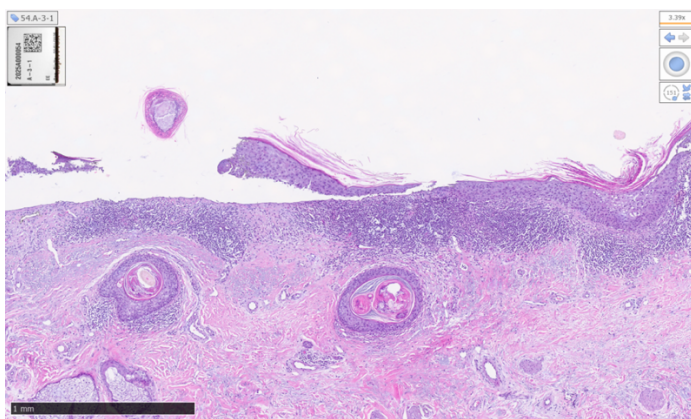


Figura 134: Ingrandimento a 3.39x, in cui si osservano zone di ulcerazione superficiale. Colorazione H&E.

Identificazione dell'area tumorale: l'area tumorale è chiaramente distinguibile rispetto al tessuto circostante per la presenza di nidi cellulari disorganizzati e perdita di architettura normale.

Mediante gli strumenti del software, la regione neoplastica è stata delimitata per consentire una valutazione quantitativa.

Misurazioni digitali: sono state effettuate le seguenti misurazioni utilizzando gli strumenti metrici integrati:

- Dimensione radiale massima: massima estensione del tumore misurata sul piano orizzontale, parallelamente alla superficie cutanea.

- Spessore massimo di infiltrazione: massima profondità raggiunta dalle cellule tumorali, in piano verticale, da epidermide a derma.

Calcolato come la distanza tra la superficie cutanea (o la base dell'epidermide, se ulcerata) e il punto più profondo di invasione tumorale.

- Area tumorale: calcolata tramite selezione manuale della regione di interesse (ROI), indica l'area bidimensionale del tumore nel piano orizzontale.

Valutazione morfologica digitale: a maggiori ingrandimenti, l'immagine digitale consente una chiara visualizzazione dei dettagli istologici e architetturali.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 135);

- Pattern di crescita prevalentemente espansivo, con pattern infiltrativo (Figura 136);

Il grado istologico è compatibile con G1/G2.

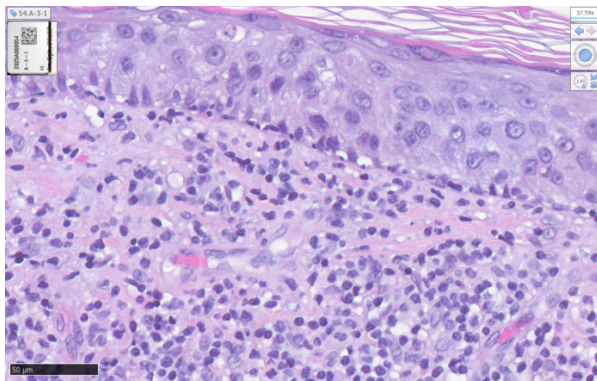


Figura 135: Ingrandimento a 37.59x, si osservano superiormente le cellule neoplastiche atipiche. Colorazione H&E.

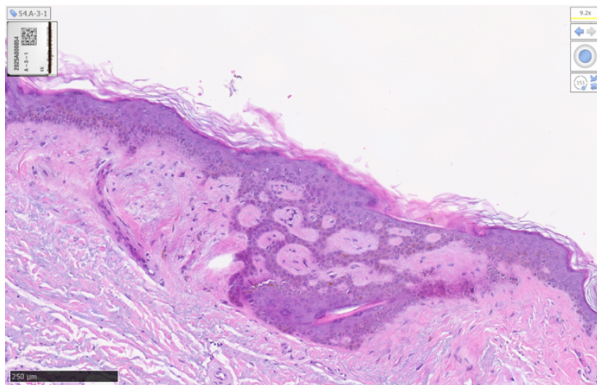


Figura 136: Ingrandimento a 9.2x, in cui si osservano i nidi tumorali infiltranti il derma. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale: la valutazione globale del vetrino ha permesso di osservare:

-Reazione linfocitaria peritumorale intensa (Figura 137).

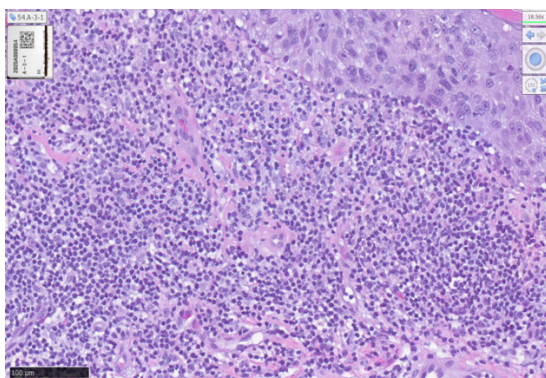


Figura 137: Ingrandimento a 18.56x, si osservano abbondanti linfociti nell'area peritumorale. Colorazione H&E.



- Caso 57

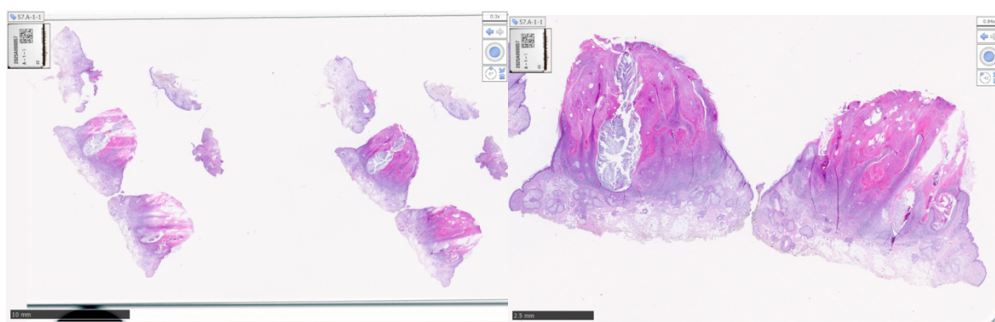


Figura 138: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.3x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a 0.84x, Colorazione H&E.

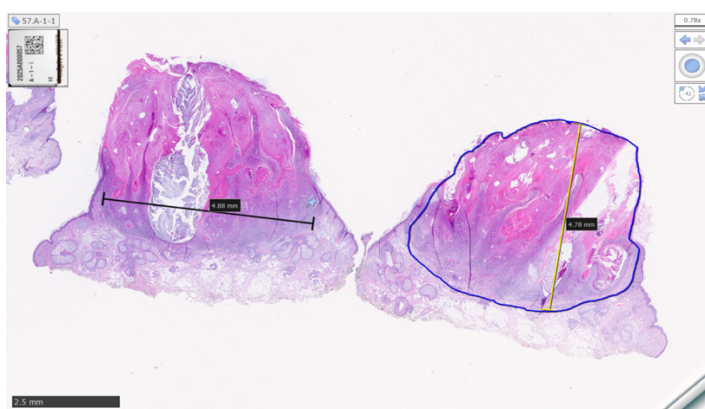


Figura 139: Preparato istologico con misure a 0.78x, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: A basso ingrandimento si osserva una proliferazione epiteliale esofitica, con crescita verso l'alto, ed endofitica, con crescita nel derma.

La superficie è irregolare senza ulcerazione evidente.

Si osserva una massa ben evidente e nodulare, con margini prevalentemente espansivi, con componente infiltrativa, cordoni e nidi che infiltrano il derma.

Si osservano ampie aree di cheratinizzazione.

Nel derma sottostante si osserva reazione linfocitaria peritumorale e annessi cutanei residui.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare lieve-lieve/moderata (Figura 140);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo, con pattern infiltrativo (Figura 141);
- Invasione perineurale: presente (Figura 142);

Il grado istologico è compatibile con G1/G2.



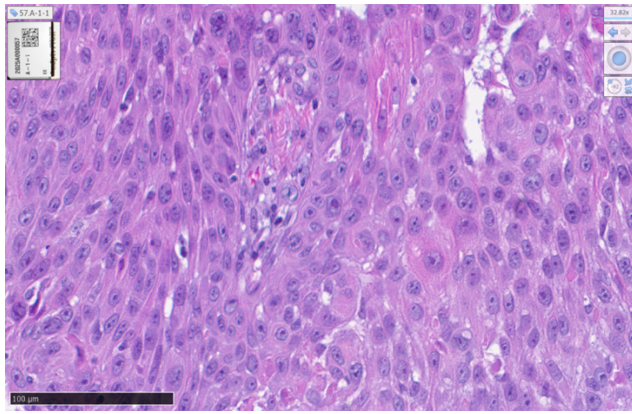


Figura 140: Ingrandimento a 32.82x, atipia nucleare lieve-moderata. Colorazione H&E.

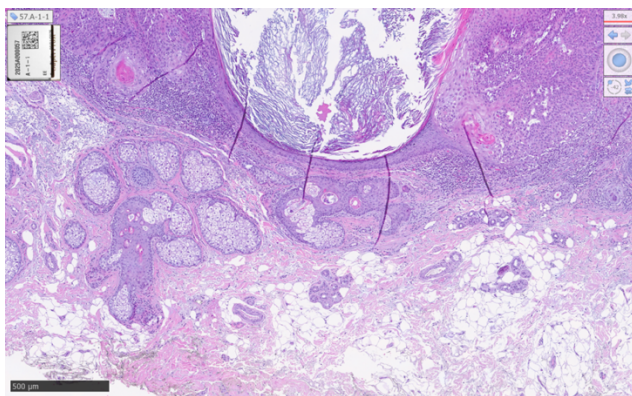


Figura 141: Ingrandimento a 3.98x, si osservano margini espansivi, con focolai infiltrativi nel derma, mentre le strutture più regolari a grappolo rappresentano annessi cutanei, ghiandole sudoripare e strutture follicolari. Colorazione H&E.

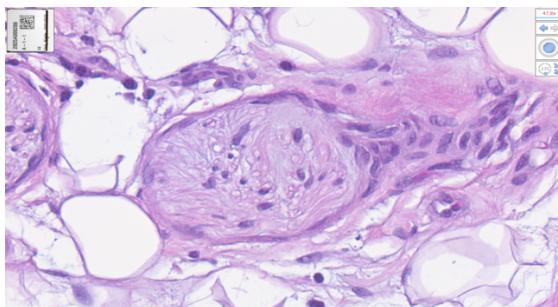


Figura 142: Ingrandimento a 47.8x, invasione perineurale presente. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata (Figura 143).

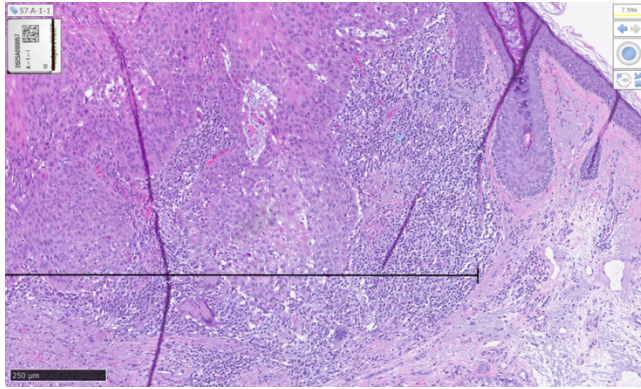


Figura 143: Ingrandimento a 7.59x, si osservano abbondanti linfociti nell'area peritumorale. Colorazione H&E.

- Caso 289

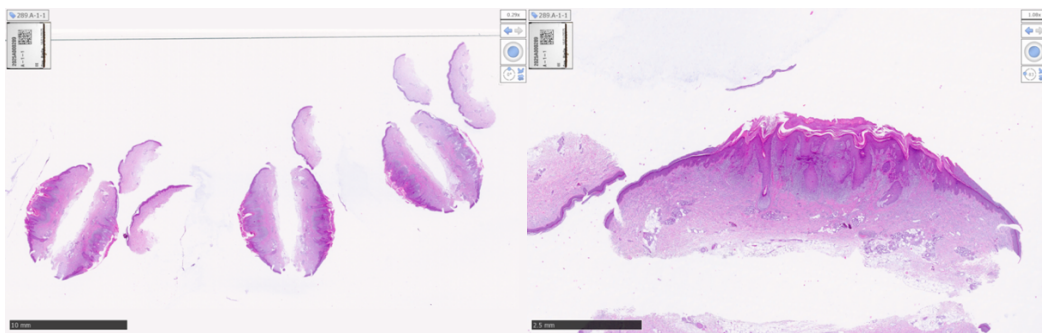


Figura 144: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento 0.29x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a 1.08x. Colorazione H&E.

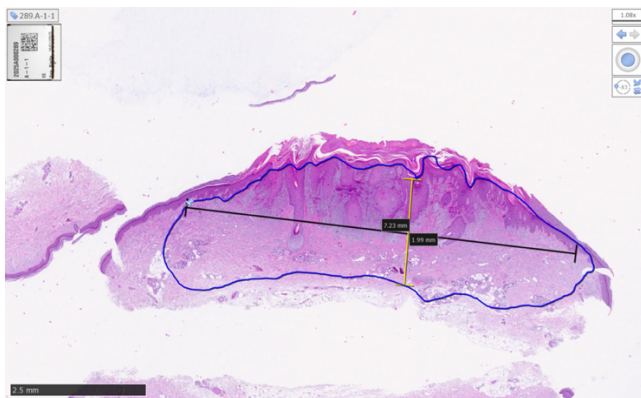


Figura 145: Preparato istologico a 1.08x con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: a basso ingrandimento si osserva una lesione asimmetrica che coinvolge epidermide e il derma sottostante, che orienta verso una lesione neoplastica infiltrante.

L'epidermide è ispessita, si osserva acantosi, con aree di ipercheratosi.

Proliferazione epiteliale con allungamento delle creste.

Nel derma sottostante si osservano nidi e cordoni cellulari che scendono nel derma, con distribuzione irregolare e pattern infiltrativo.

Lo stroma è fibroso e desmoplastico con infiltrato infiammatorio e reazione linfocitaria modesta.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare marcata (Figura 146);

- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 147);

Il grado istologico è compatibile con G2.

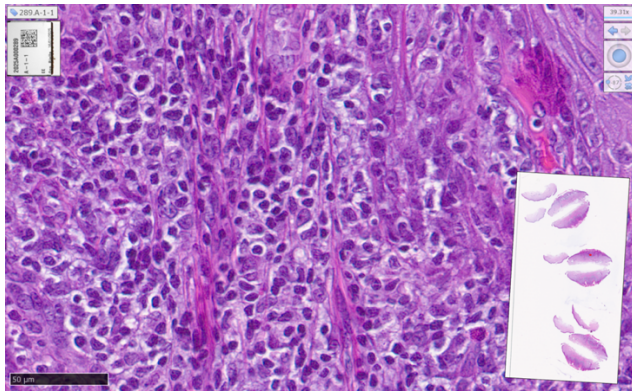


Figura 146: Ingrandimento a 39.31x, atipia nucleare marcata. Colorazione H&E.

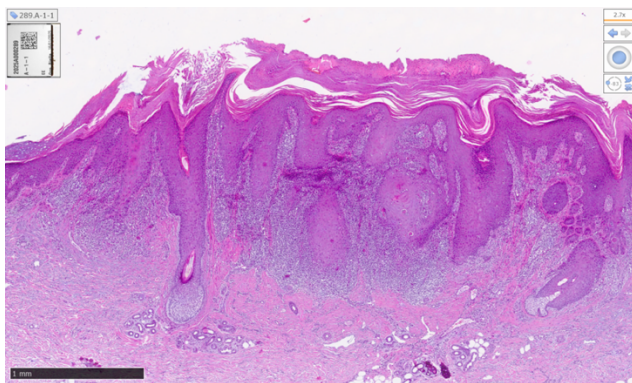


Figura 147: Ingrandimento a 2.7x, si osserva pattern di infiltrazione nel derma. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

- Reazione linfocitaria peritumorale marcata (Figura 148).



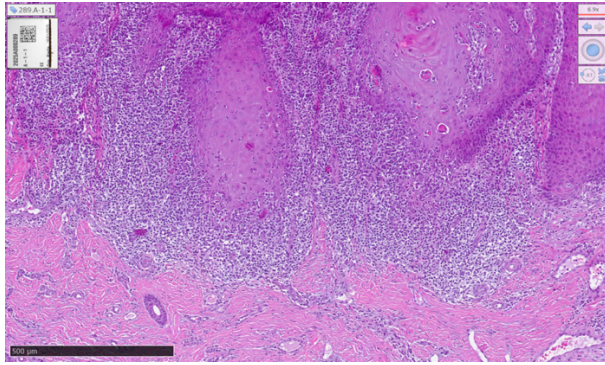


Figura 148: Ingrandimento a 6.9x, reazione linfocitaria peritumorale marcata. Colorazione H&E.

- Caso 293

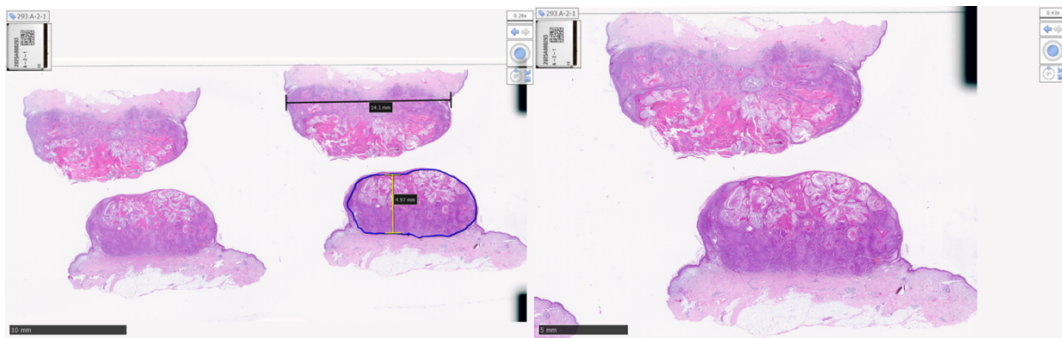


Figura 149: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento 0.28x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a 0.43x. Colorazione H&E.

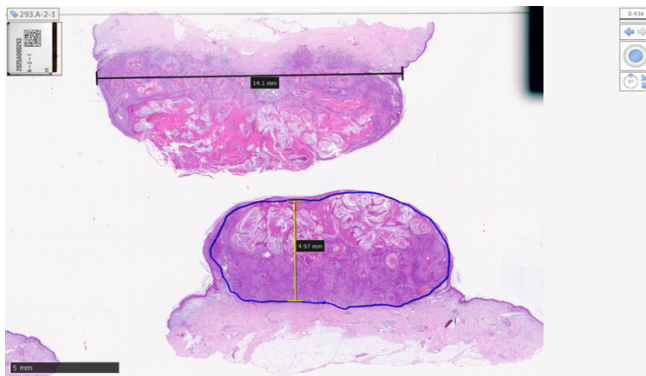


Figura 150: Preparato istologico con ingrandimento a 0.43x con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione cutanea ampia, fortemente cheratinizzante, con componente esofitica superficiale e componente endofitica infiltrante in profondità.

L'architettura complessiva è quella di una neoplasia epiteliale squamosa con abbondante produzione di cheratina.

La parte superiore mostra ipercheratosi marcata e diverse perle cornee che indicano differenziazione squamosa.

La parte centrale mostra nidi tumorali che infiltrano nel derma, uno stroma reattivo, fibroso e desmoplastico.

Nel referto di microscopia ottica viene indicata ulcerazione, dall'immagine in Digital non si osserva una ulcerazione netta, ma possibile superficie irregolare e ipercheratosica.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare marcata con aree di intensa attività mitotica (Figura 151);

- Pattern di crescita infiltrativi (Figura 152);

Il grado istologico è compatibile con G2/G3.

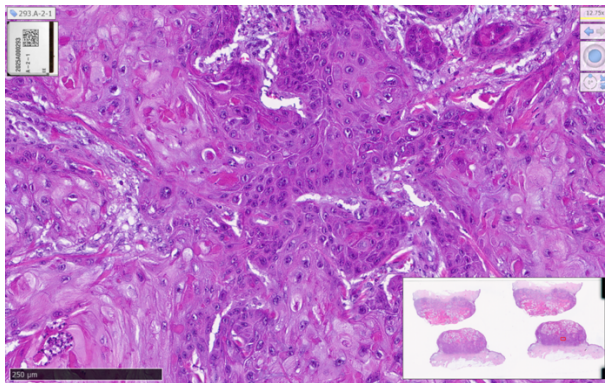


Figura 151: Ingrandimento a 12.75x. Si osserva atipia nucleare e attività mitotiche elevate. Colorazione H&E.

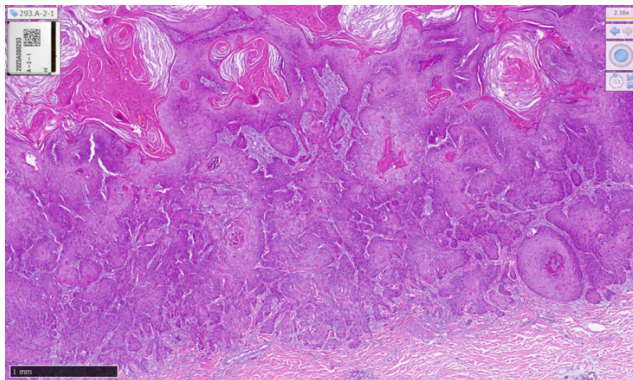


Figura 152: Ingrandimento a 2.16x. Si osservano i margini di accrescimento infiltrativo nel derma. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale scarsa/assente (Figura 153).

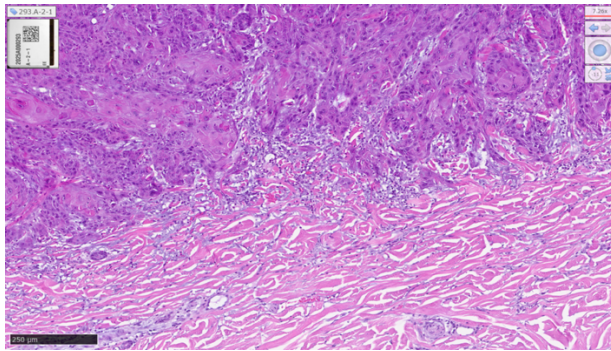


Figura 153: Ingrandimento a 7.26x. Reazione linfocitaria peritumorale scarsa. Colorazione H&E.

-Angioinvasione: dubbia dalle immagini di microscopia ottica, negativa dalle immagini in Digital (Figura 154).

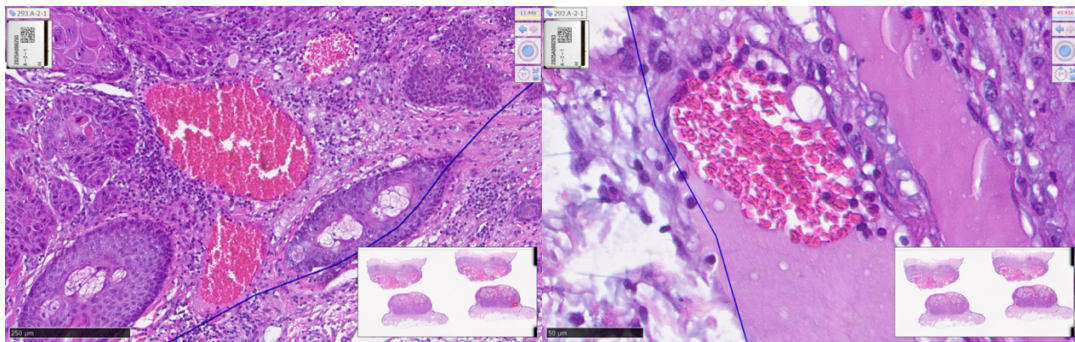


Figura 154: a sinistra, ingrandimento a 11.44x, a destra ingrandimento a 45.91x. Colorazione H&E

- Caso 513

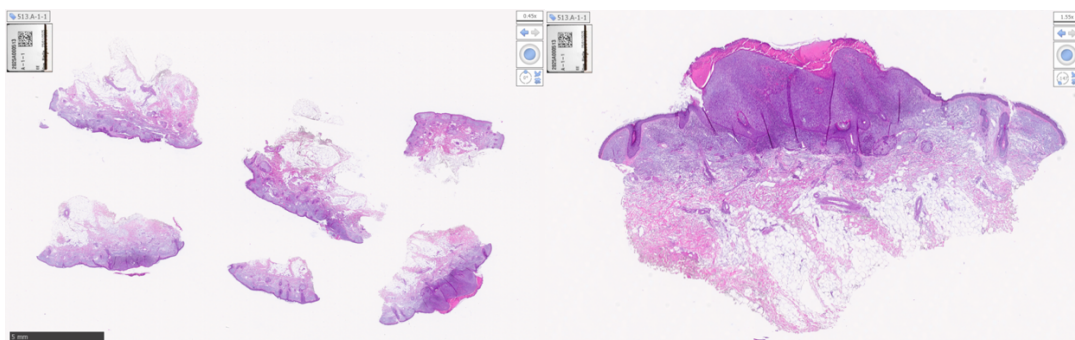


Figura 155: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.45x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento 1.55x. Colorazione H&E.



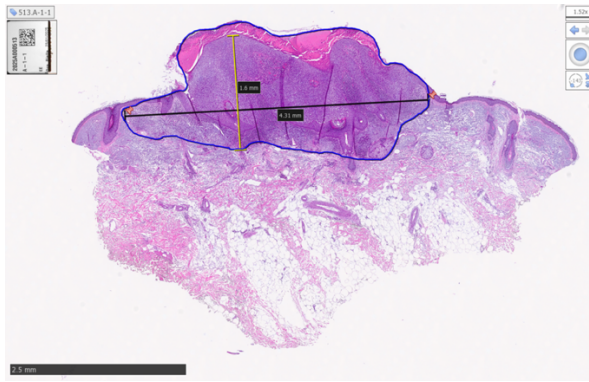


Figura 156: Preparato istologico a 1.52x con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale squamosa esofitica ed endofitica, con una componente centrale ampia e compatta che si approfonda nel derma.

Marcata ipercheratosi superficiale con area centrale ulcerata.

Nello stroma sottostante si osserva reazione infiammatoria, fibrosi e desmoplasia superficiale. (Figura 157).

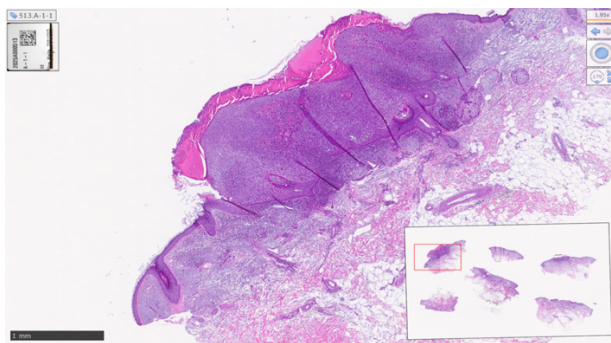


Figura 157: Ingrandimento a 1.95x. Si osserva cheratinizzazione superficiale e ulcerazione dell'epidermide. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

-Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata-marcata (Figura 158);

-Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 159);

Il grado istologico è compatibile con G2.



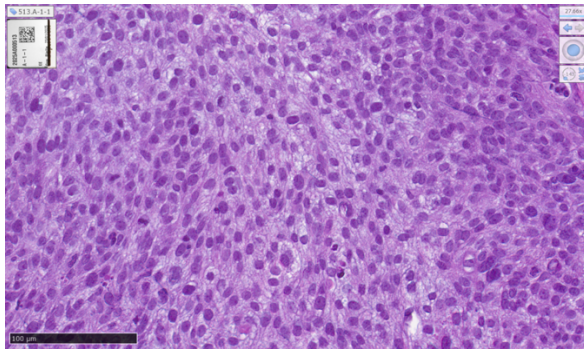


Figura 158: Ingrandimento a 27.66x, atipia nucleare moderata-marcata. Colorazione H&E.

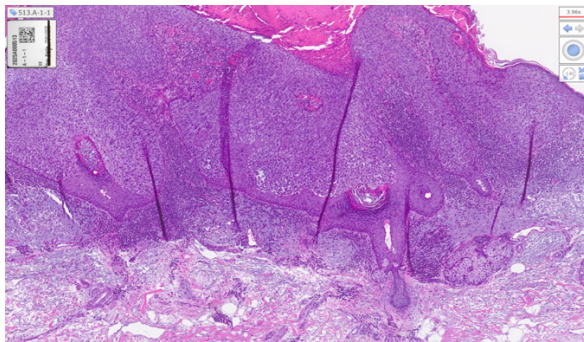


Figura 159: Ingrandimento a 3.96x. Si osservano margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria modesta (Figura 160).

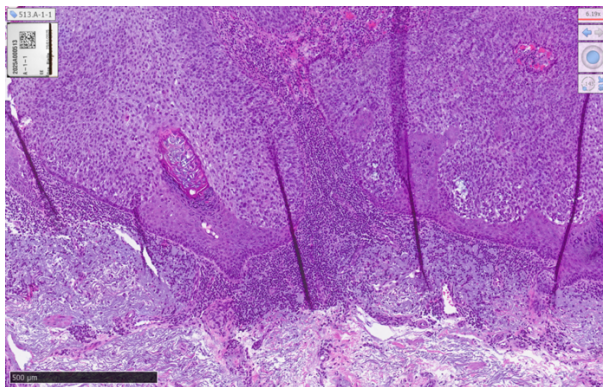


Figura 160: Ingrandimento a 6.19x. Si osservano abbondanti linfociti in area peritumorale. Colorazione H&E.

-Angioinvasione: assente (Figura 161).

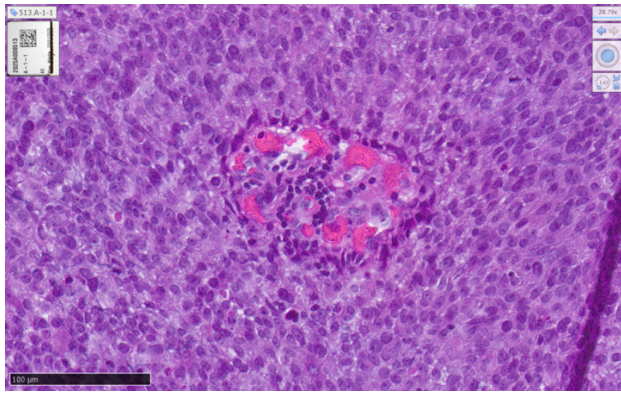


Figura 161: Ingrandimento a 28.79x. Si osserva un vaso di piccole dimensioni, con presenza di linfociti e globuli rossi, e assenza di cellule tumorali. Colorazione H&E.

- Caso 530



Figura 162: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.36x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento 1.87x. Colorazione H&E.

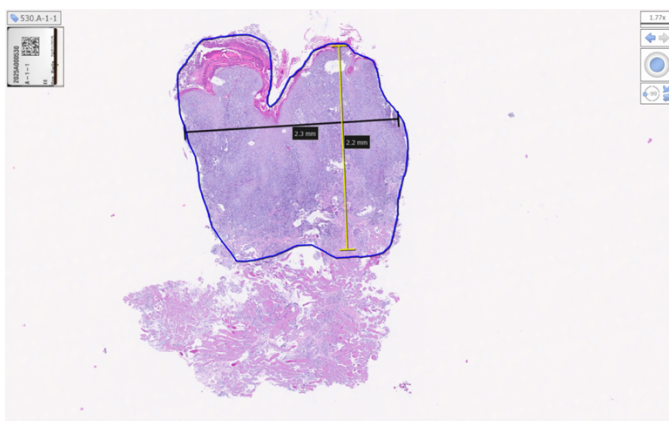


Figura 163: Preparato istologico a ingrandimento 1.77x, con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione esofitica-endofitica cheratinizzante, con ipercheratosi centrale. Margini di accrescimento prevalentemente espansivi.

Nel derma si osserva stroma infiammatorio, e reazione linfocitaria moderata. (Figura 164).

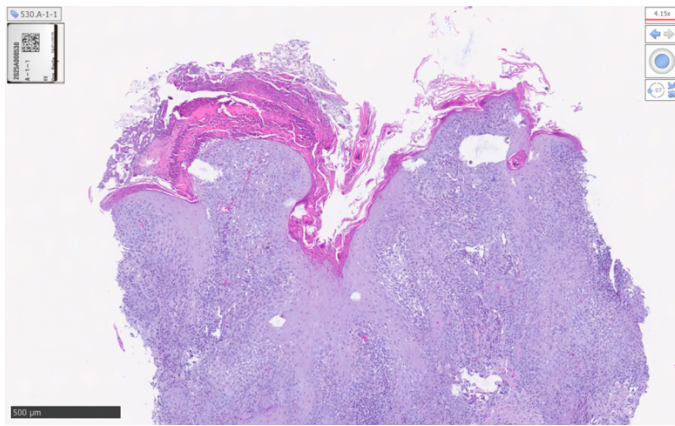


Figura 164: Ingrandimento a 4.15x, si osserva cheratinizzazione superficiale causata da cheratoacantoma, e ulcerazione dell'epidermide. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 165);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 166);

Il grado istologico è compatibile con G1/G2.

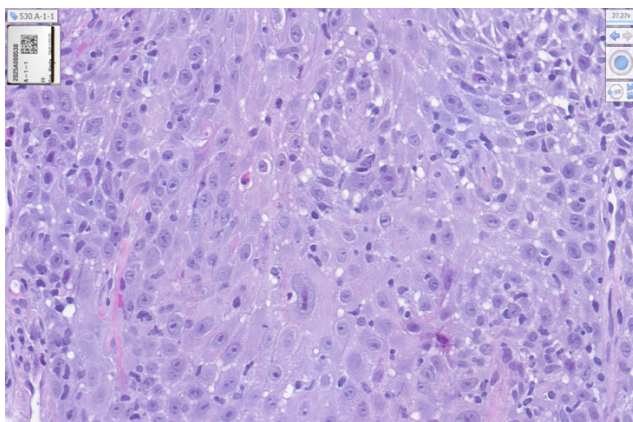


Figura 165: Ingrandimento a 27.27x. Si osserva atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

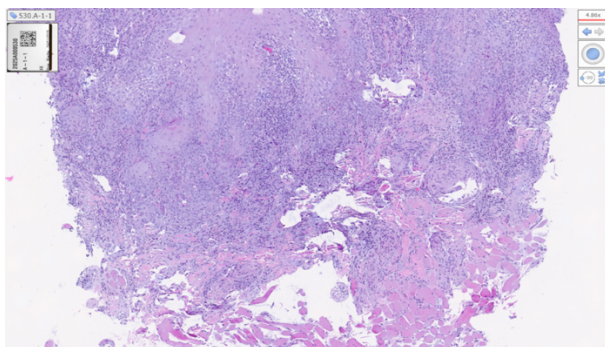




Figura 166: Ingrandimento a 4.86x. Margini di accrescimento prevalentemente espansivo. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 167).

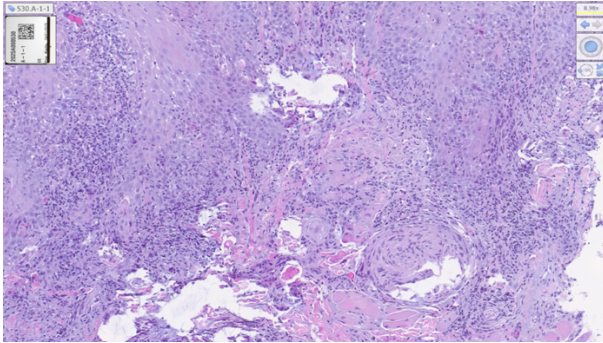


Figura 167: Ingrandimento a 8.98x. Reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 581

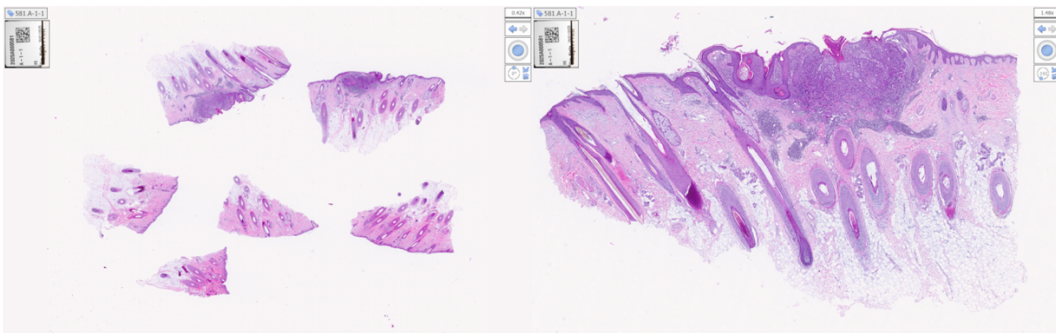


Figura 168: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.42x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento 1.48x. Colorazione H&E.

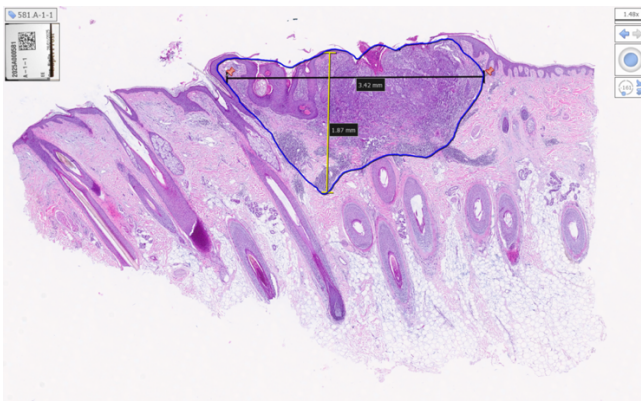


Figura 169: Preparato istologico con ingrandimento 1.48x, con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale asimmetrica, con ulcerazione superficiale centrale. Si osserva una proliferazione epiteliale irregolare con aspetto endofitico ed esofitico. Intenso infiltrato infiammatorio nel derma sottostante. Si osservano anche numerosi annessi follicolari del cuoio capelluto. (Figura 170).

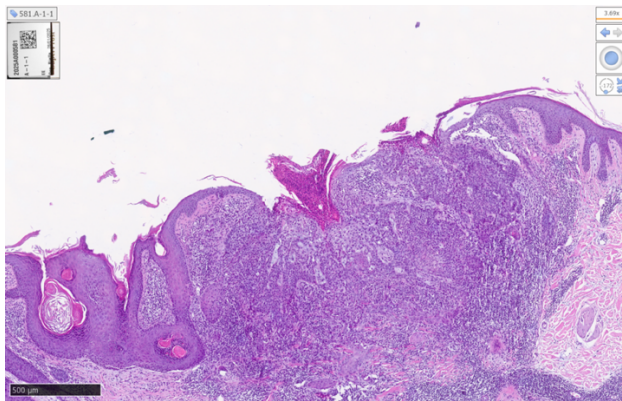


Figura 170: Ingrandimento a 3.69x. Si osserva ulcerazione superficiale dell'epidermide. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 171);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 172);

Il grado istologico è compatibile con G2.

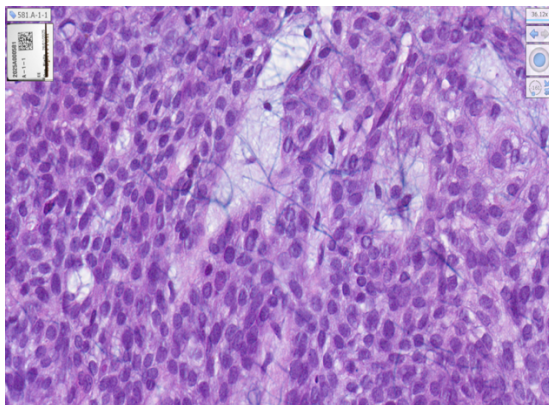


Figura 171: Ingrandimento a 36.12x. Atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

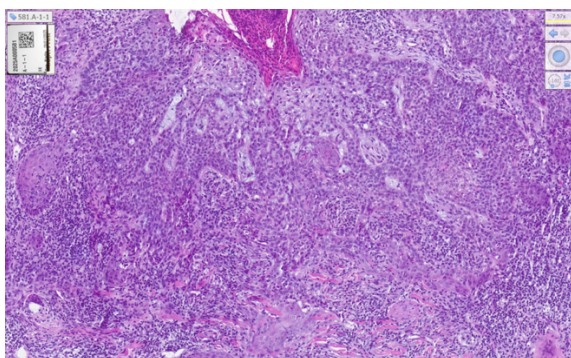


Figura 172: Ingrandimento a 7.57x. Margini di accrescimento prevalentemente espansivo. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria modesta (Figura 173).

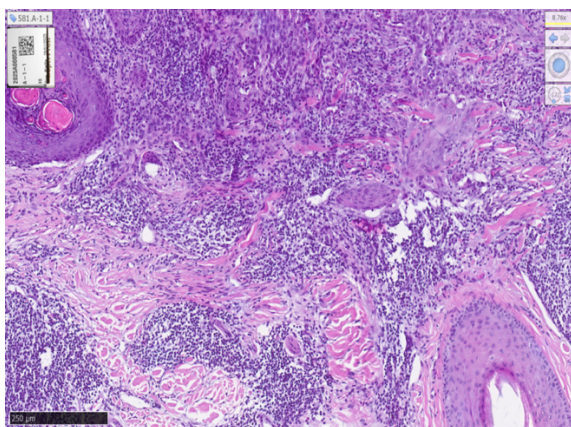


Figura 173: Ingrandimento a 8.76x. Reazione linfocitaria peritumorale modesta. Colorazione H&E.

- Caso 586

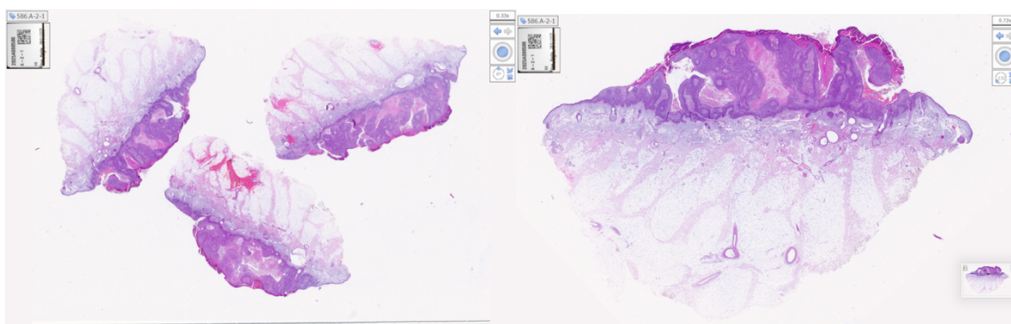


Figura 174: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.33x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento 0.72x. Colorazione H&E.



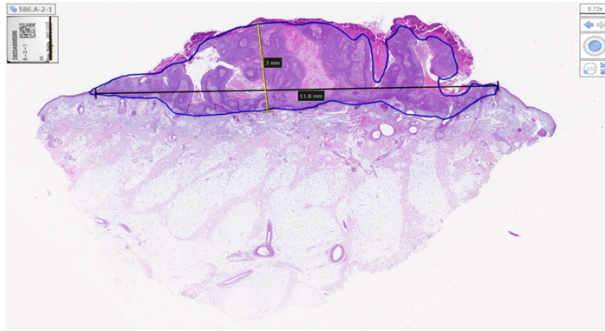


Figura 175: Preparato istologico con ingrandimento 0.72x, con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale con estensione esofitica ed endofitica.

Nella parte centrale si osservano aree compatibili con cheratinizzazione.

La superficie è irregolare, in alcune zone ulcerata.

La crescita appare prevalentemente espansiva, numerosi lobuli scendono nel derma superficiale e medio.

Nell'area peritumorale si osserva stroma desmoplastico lieve, coerente con reazione linfocitaria scarsa.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

-Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 176);

-Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 177);

Il grado istologico è compatibile con G2.

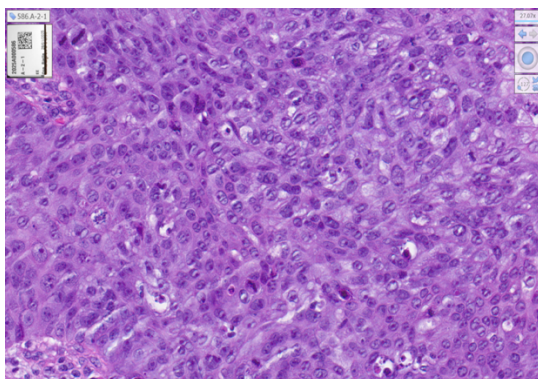


Figura 176: Ingrandimento a 27.07x, si osserva atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.



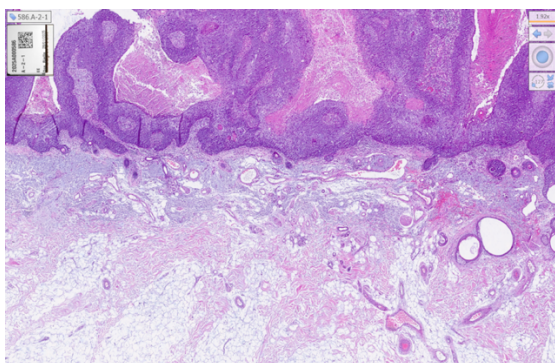


Figura 177: Ingrandimento a 1.92x, margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale scarsa/assente.

- Caso 727

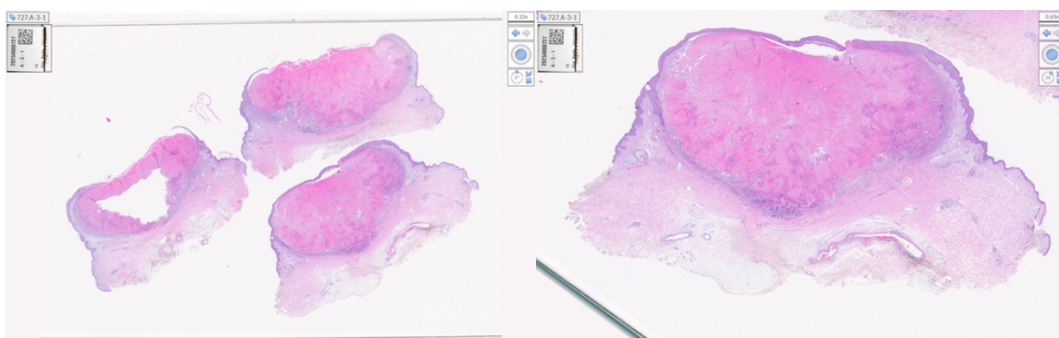


Figura 178: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.32x. Colorazione H&E, a destra, preparato a ingrandimento 0.65x. Colorazione H&E.

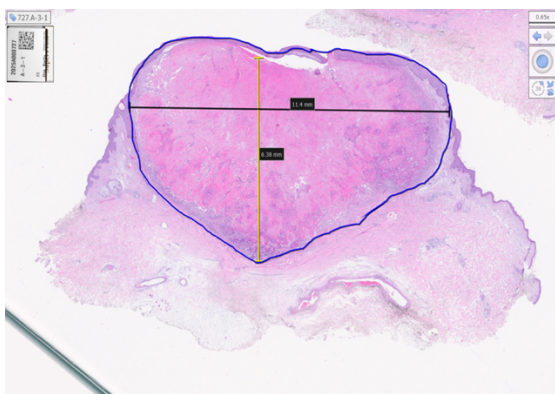


Figura 179: Preparato a ingrandimento 0.65x, con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Massa simmetrica e ben delimitata, zona centrale ipercheratosica.

Architettura regolare, prevalentemente esofitica ed espansiva.

Nello stroma sottostante si osserva una reazione infiammatoria moderata.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare lieve (Figura 180);

- Pattern di crescita espansivo (Figura 181);

Il grado istologico è compatibile con G1.

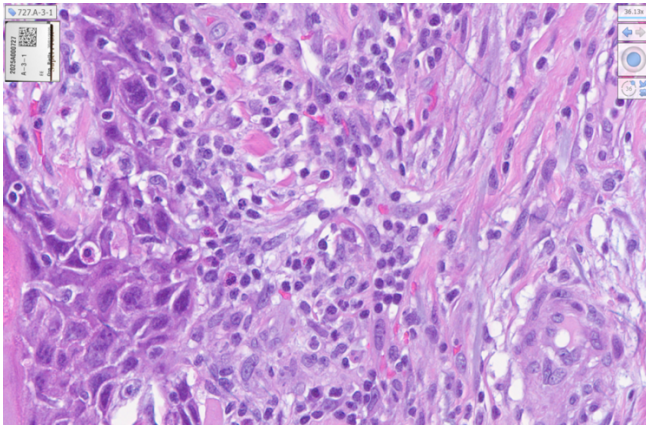


Figura 180: Ingrandimento a 36.13x, atipia nucleare lieve. Colorazione H&E.

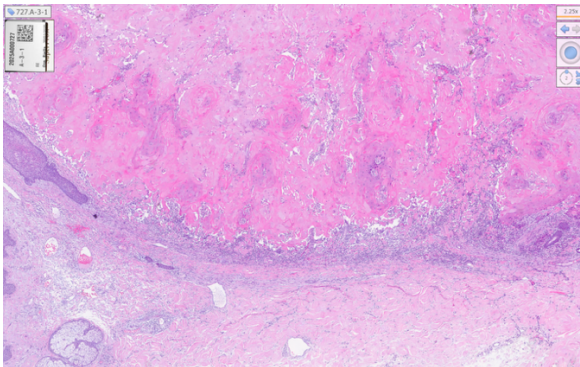


Figura 181: Ingrandimento a 2.25x, si osservano margini di accrescimento espansivo. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

- Reazione linfocitaria peritumorale moderata (Figura 182).

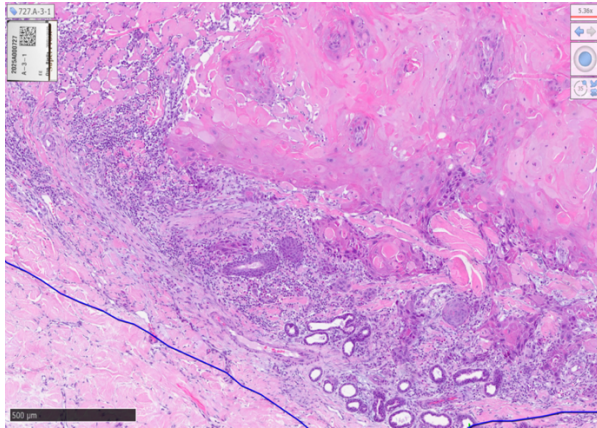


Figura 182: Ingrandimento a 5.36x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 732

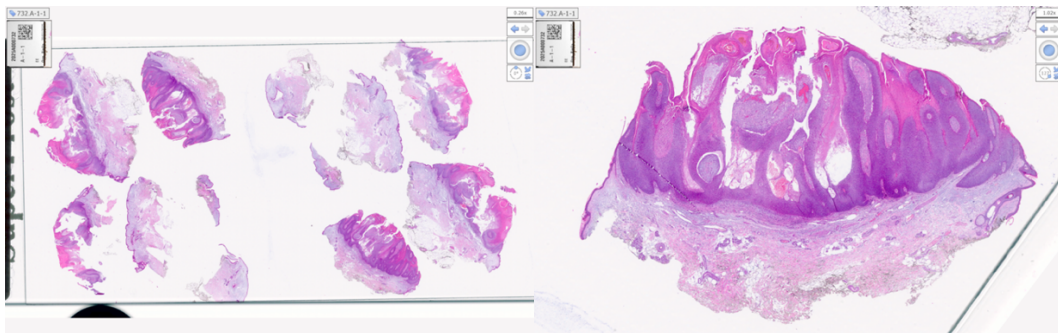


Figura 183: A sinistra visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.26x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico ingrandito a 1.02x. Colorazione H&E.

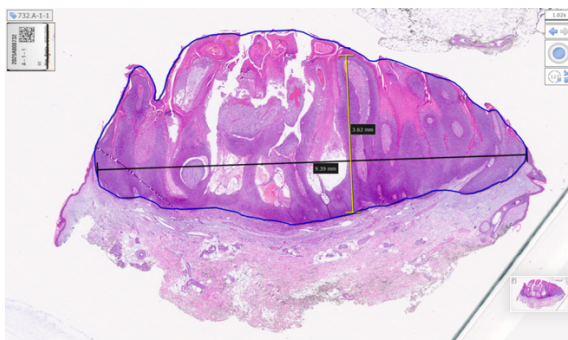


Figura 184: Preparato istologico ingrandito a 1.02x, con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione squamoproliferativa ampia, simmetrica, esofitica ed endofitica. Marcata cheratinizzazione superficiale: cheratoacantoma.



Proliferazione epiteliale lobulata che scende nel derma, con margini di accrescimento prevalentemente espansivi.

Nello stroma sottostante fibroso si osserva infiltrato infiammatorio moderato. (Figura 185).

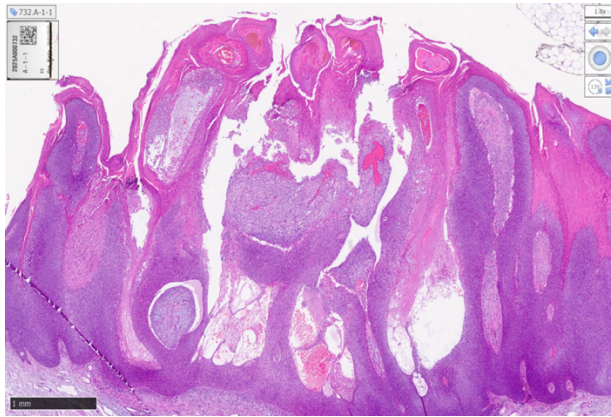


Figura 185: Ingrandimento a 1.8x, si osserva cheratinizzazione e ulcerazione. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 186);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 187);

Il grado istologico è compatibile con G1.

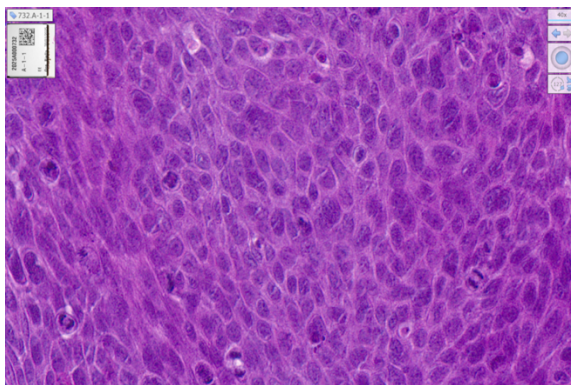


Figura 186: Ingrandimento a 40x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

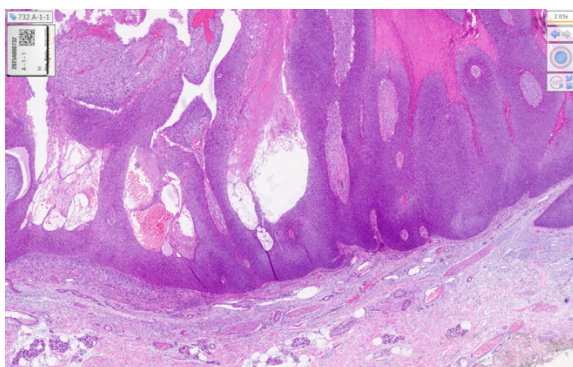


Figura 187: Ingrandimento a 2.05x, margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata (Figura 188).

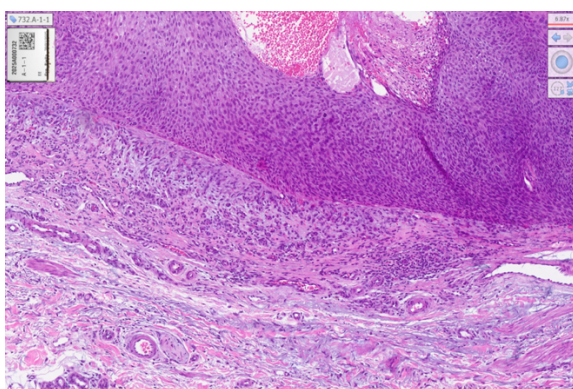


Figura 188: Ingrandimento a 6.87x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 962

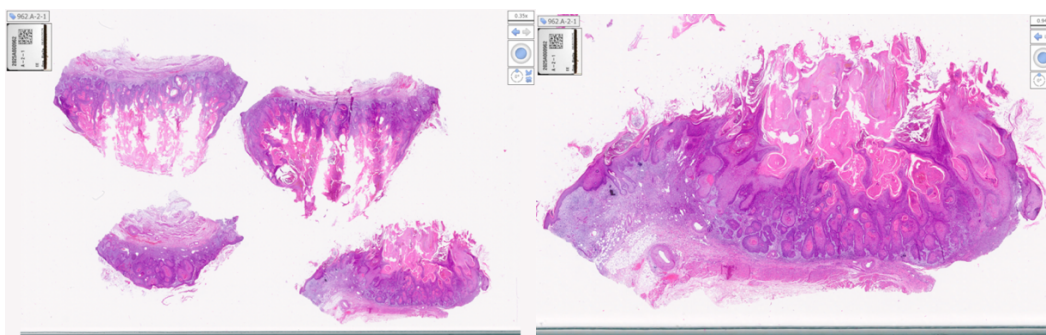


Figura 189: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.35x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a 0.94x. Colorazione H&E.

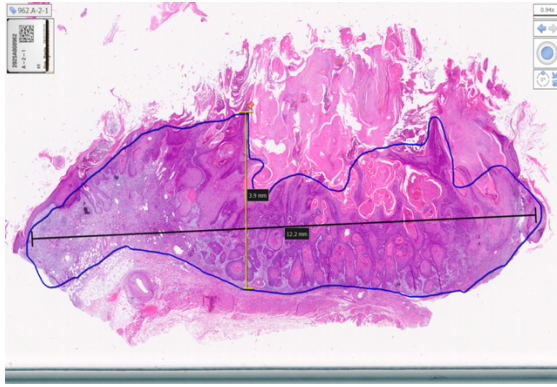


Figura 190: Preparato istologico a 0.94x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale cheratinizzante.

In superficie si osserva materiale cheratinico e ulcerazione superficiale.

Marcata ipercheratosi in superficie, proliferazione ampia e asimmetrica.

Si osservano nidi epiteliali che scendono nel derma.

Si nota uno stroma reattivo e infiammatorio attorno ai nidi tumorali, con reazione linfocitaria moderata. (Figura 191).

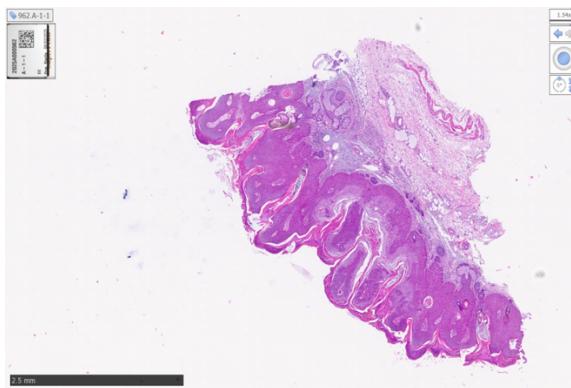


Figura 191: Ingrandimento a 1.54x, apici con cheratosi attinica. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

-Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 192);

-Pattern di crescita infiltrativo (Figura 193);

Il grado istologico è compatibile con G1/G2.



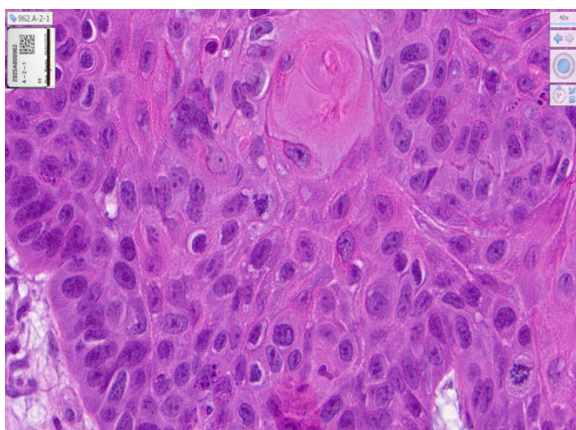


Figura 192: Ingrandimento a 40x, atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

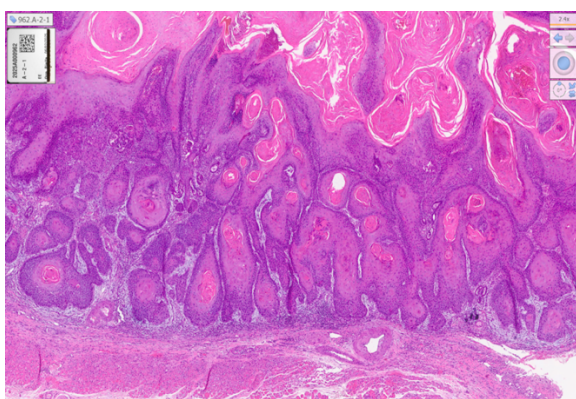


Figura 193: Ingrandimento a 2.4x, margini di accrescimento infiltrativi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale modesta. (Figura 194).

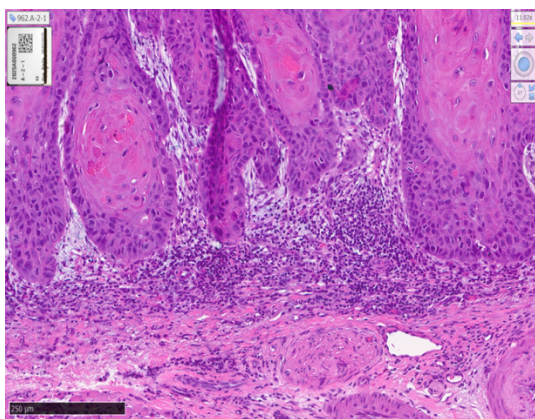


Figura 194: Ingrandimento a 11.02x, reazione linfocitaria peritumorale modesta. Colorazione H&E.

- Caso 1230

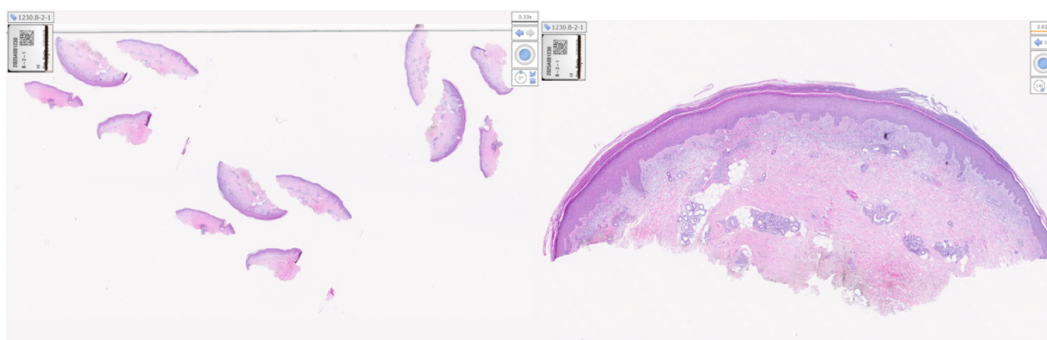


Figura 195: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.33x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento 2.02x. Colorazione H&E.

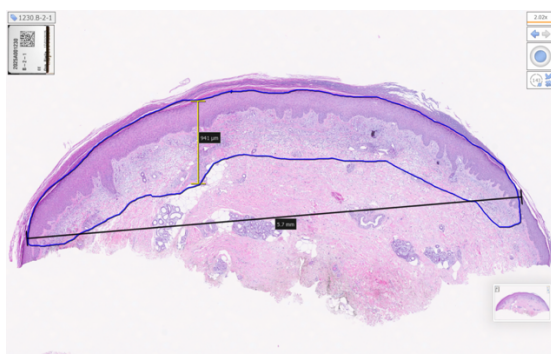


Figura 196: Preparato istologico con ingrandimento 2.02x, con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione dermica infiltrante, ben differenziata.

Epidermide continua e non ulcerata, con acantosi e ipercheratosi.

Nel derma medio-profondo si osservano nidi tumorali.

Lo stroma è fibroso e desmoplastico.

Si osservano anche annessi cutanei residui.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare lieve (Figura 197);

- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 198);

Il grado istologico è compatibile con G1.

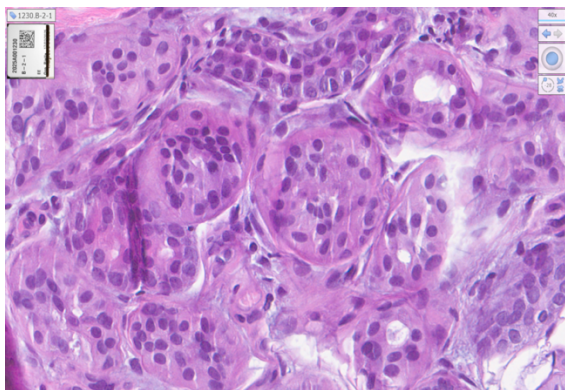


Figura 197: Ingrandimento a 40x, atipia nucleare lieve. Colorazione H&E.

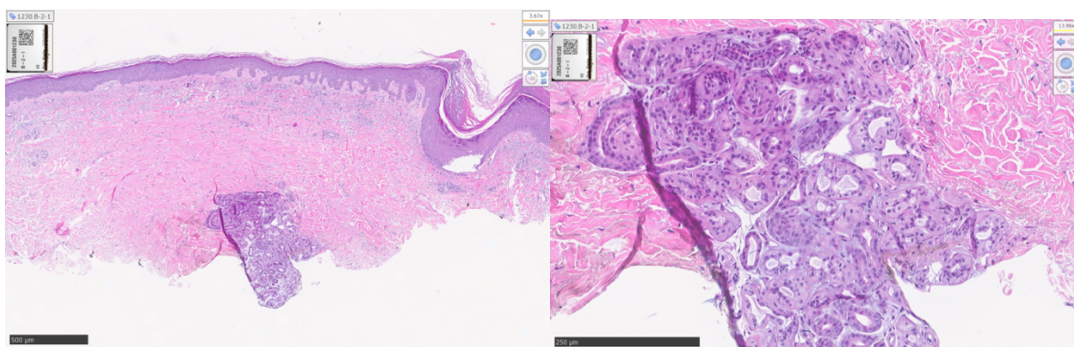


Figura 198: a sinistra, ingrandimento a 3.67x, infiltrazione nel derma. A destra, ingrandimento a 13.69x, nido tumorale. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale scarsa/assente (Figura 199).

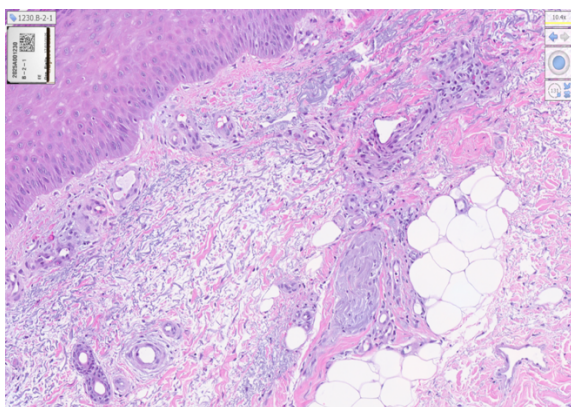


Figura 199: Ingrandimento 10.4x. Reazione linfocitaria peritumorale scarsa, quasi assente. Colorazione H&E.



- Caso 1426

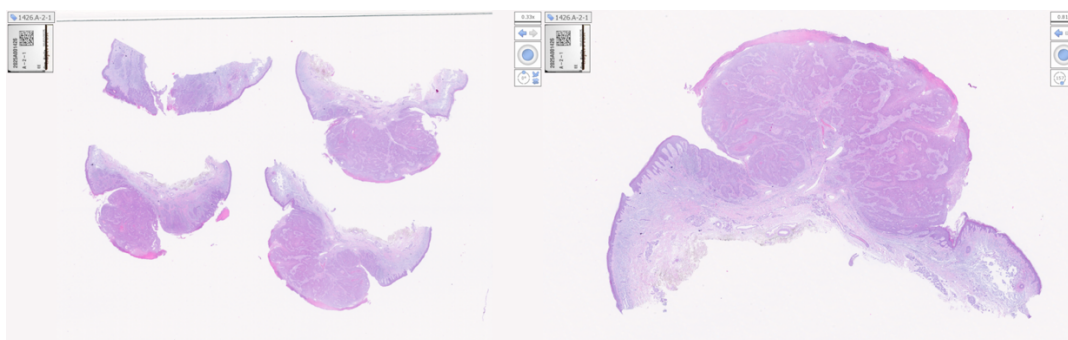


Figura 200: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.33x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento 0.81x. Colorazione H&E.

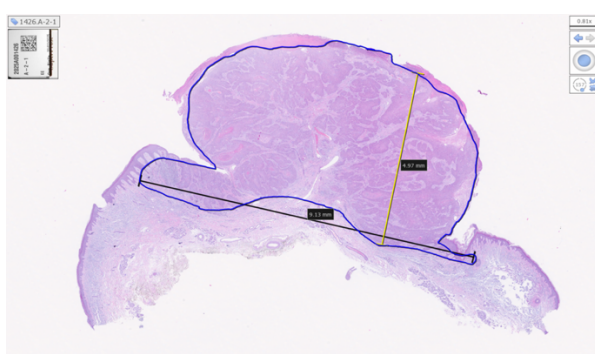


Figura 201: Preparato istologico a 0.81x, con misure, dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale squamosa, esofitica e invasiva.

Superficialmente si osservano aree di ulcerazione.

Ampi nidi e lobuli di cellule squamose che scendono nel derma.

L'architettura rimane abbastanza organizzata.

Presenza di stroma fibroso che separa i lobuli tumorali. (Figura 202).

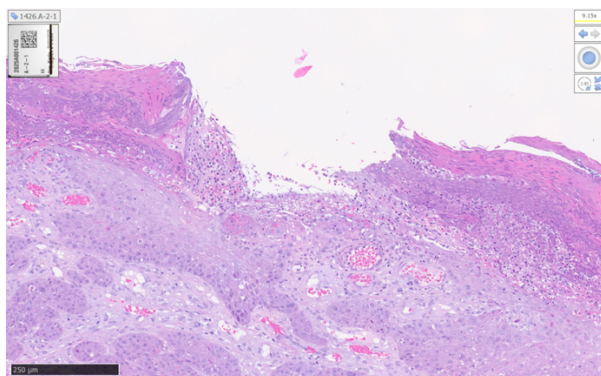


Figura 202: Ingrandimento a 9.15x, ulcerazione superficiale dell'epidermide. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 203);

- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 204);

Il grado istologico è compatibile con G2.

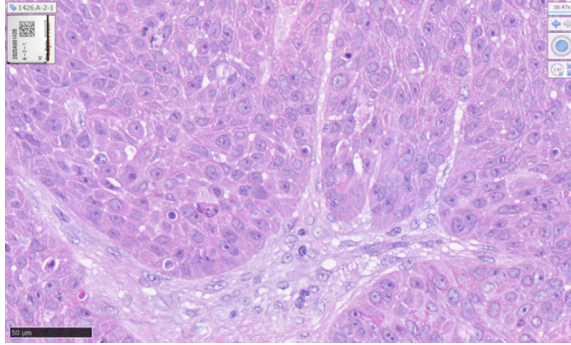


Figura 203: Ingrandimento a 36.47x, atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

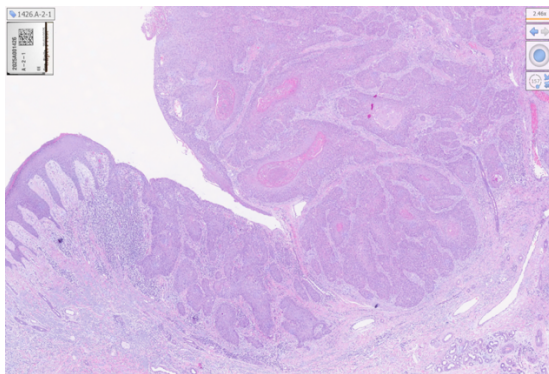


Figura 204: Ingrandimento a 2.46x, margini di accrescimento infiltrativi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

- Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 205).

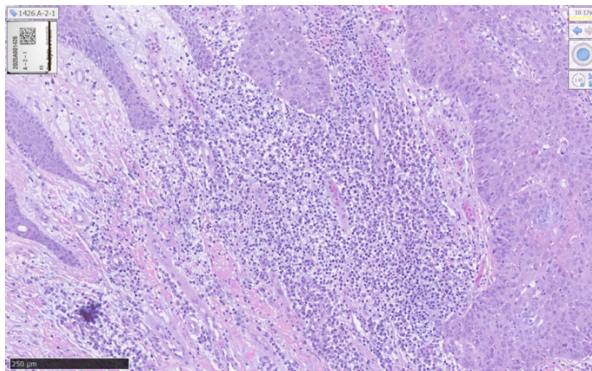


Figura 205: Ingrandimento a 10.17x, reazione linfocitaria moderata. Colorazione H&E.

- Caso 1492

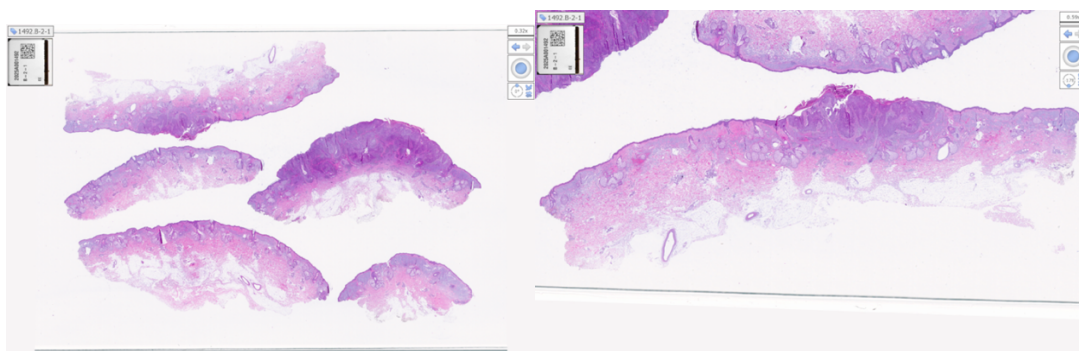


Figura 206: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.32x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento 0.59x. Colorazione H&E.



Figura 207: Preparato istologico a 0.59x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione cutanea prevalentemente endofitica, associata a una ulcerazione superficiale.

Nel derma superficiale e medio si osservano lobuli/nidi epiteliali squamo-basaloidi.

Si osserva stroma circostante fibroso con infiltrato infiammatorio marcato. (Figura 208).

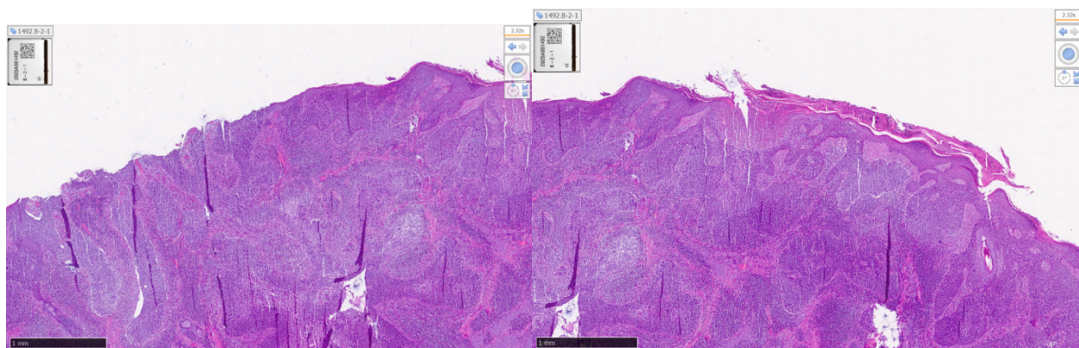


Figura 208: Ingrandimento a 2.32x, ulcerazione superficiale dell'epidermide. Colorazione H&E.



Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 209);
- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 210);

Il grado istologico è compatibile con G2.

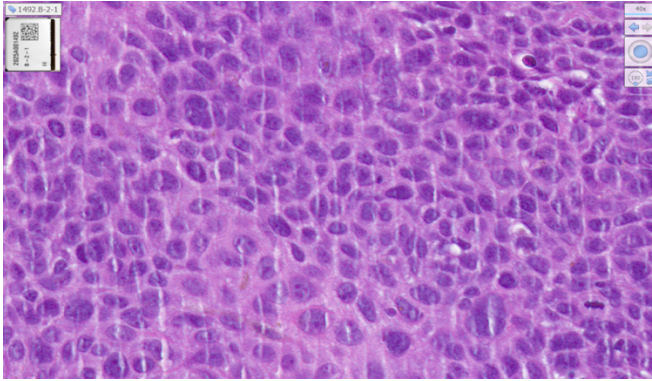


Figura 209: Ingrandimento a 40x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

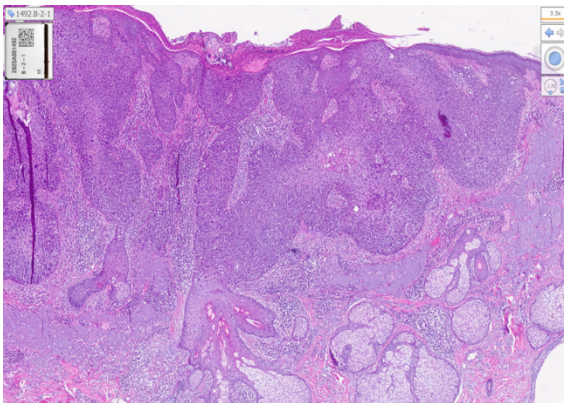


Figura 210: Ingrandimento a 3.3x, margini di accrescimento infiltrativi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

- Reazione linfocitaria peritumorale marcata. (Figura 211).

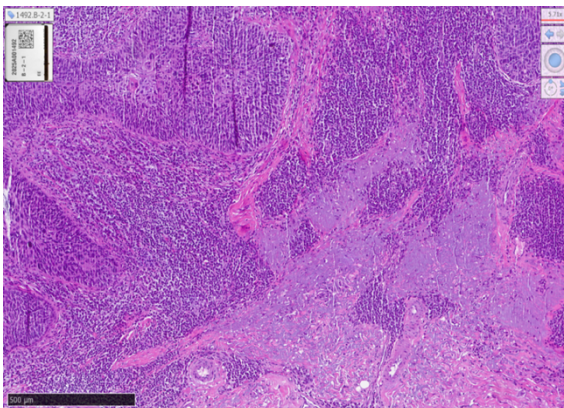


Figura 211: Ingrandimento a 5.71x, reazione linfocitaria marcata. Colorazione H&E.

- Caso 1497

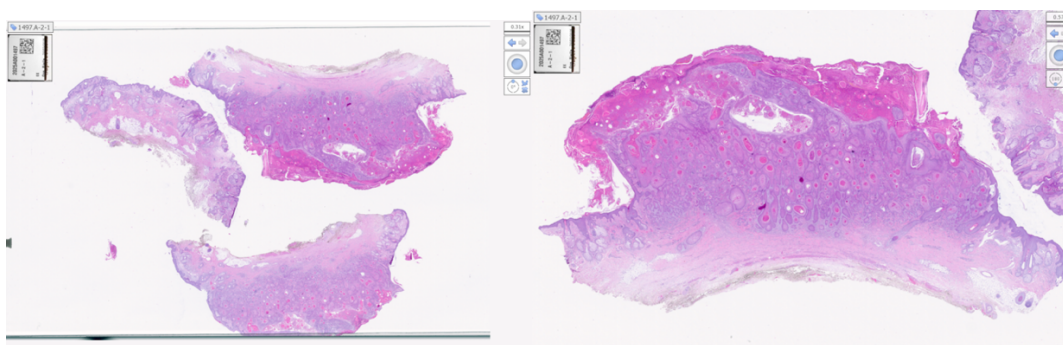


Figura 212: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.31x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento 0.57x. Colorazione H&E.

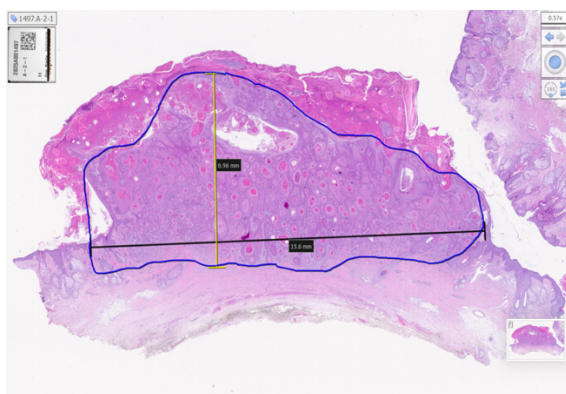


Figura 213: Preparato istologico a ingrandimento 0.57x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione squamosa cheratinizzante ampia, esofitica ed endofitica, con invasione del derma.

Cheratinizzazione molto marcata, con numerose perle cornee.

In superficie si osserva ipercheratosi e ulcerazione superficiale.

Lo stroma sottostante appare fibroso e desmoplastico.

È presente componente infiammatoria peritumorale moderata. (Figura 214).

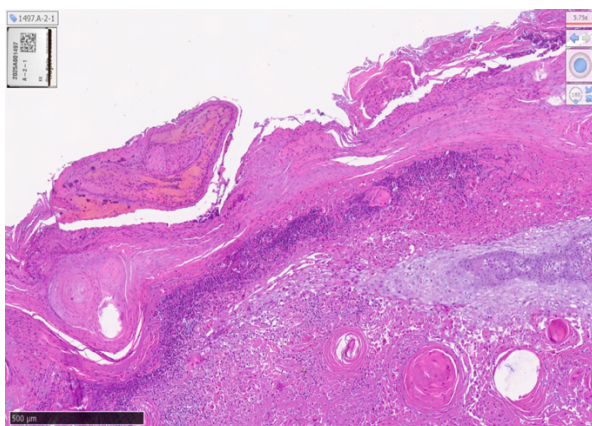


Figura 214: Ingrandimento a 5.75x, ulcerazione superficiale epidermica. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 215);
- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 216);

Il grado istologico è compatibile con G2.

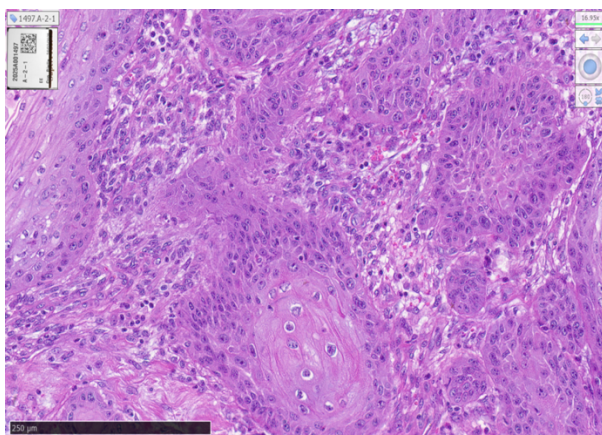


Figura 215: Ingrandimento a 16.95x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

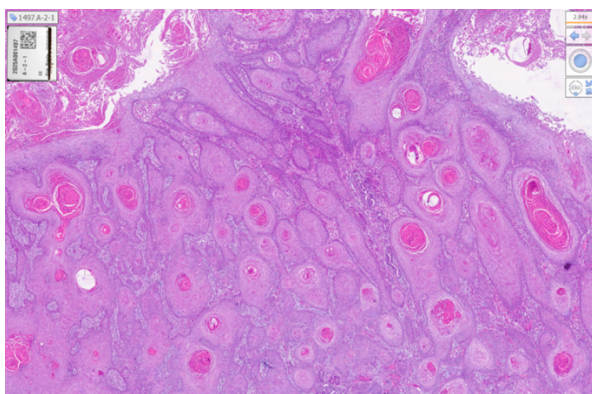


Figura 216: Ingrandimento a 2.64x, margini di accrescimento infiltrativi. Colorazione H&E.



Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 217).

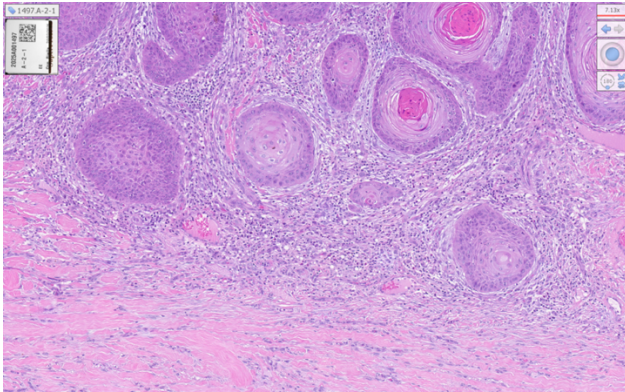


Figura 217: Ingrandimento a 7.13x, reazione linfocitaria moderata. Colorazione H&E.

- Caso 1605

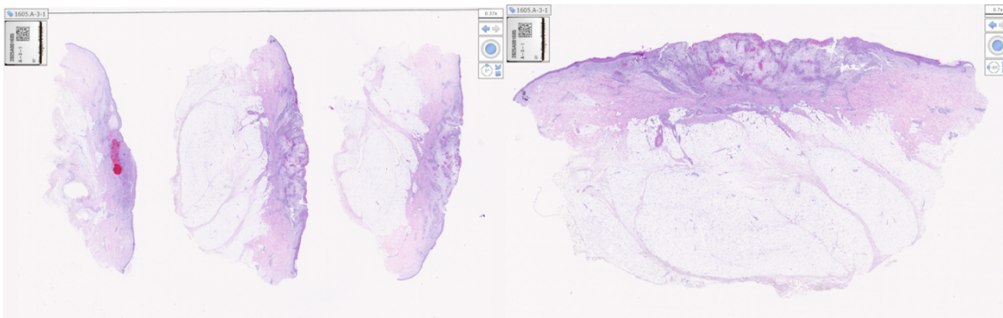


Figura 218: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.37x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento a 0.7x. Colorazione H&E.

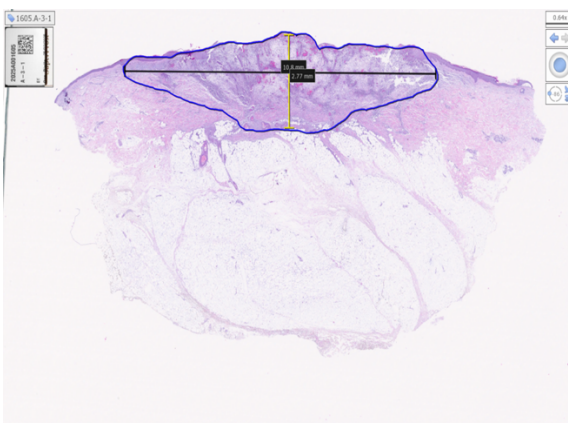


Figura 219: Preparato istologico con ingrandimento 0.64x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione cutanea ulcerata, con ampia componente stromale/desmoplastica e infiltrazione in profondità fino al sottocute.

Superficie ulcerata con essudato e infiammazione superficiale.

Si osservano cordoni e nidi che scendono in profondità.

Lo stroma appare fibroso-desmoplastico, con componente infiammatoria nelle aree superficiali e peritumorali. (Figura 220).

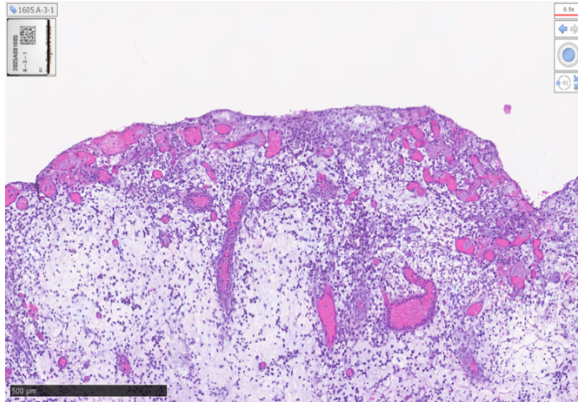


Figura 220: Ingrandimento a 6.9x, ulcerazione superficiale epidermica. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

-Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 221);

-Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 222);

Il grado istologico è compatibile con G2.

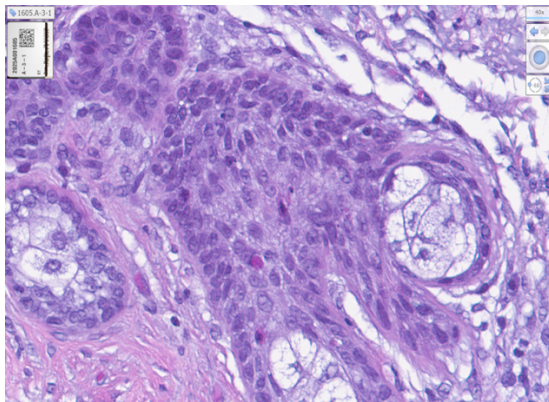


Figura 221: Ingrandimento a 40x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

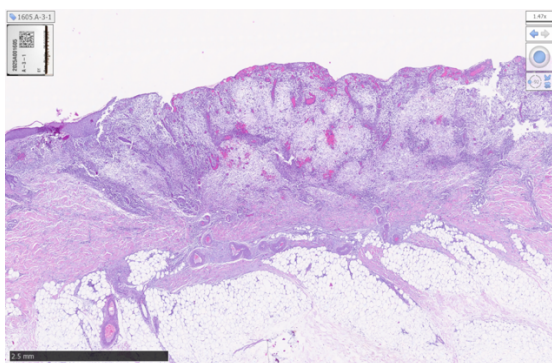


Figura 222: Ingrandimento a 1.47x, margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale intensa. (Figura 223).

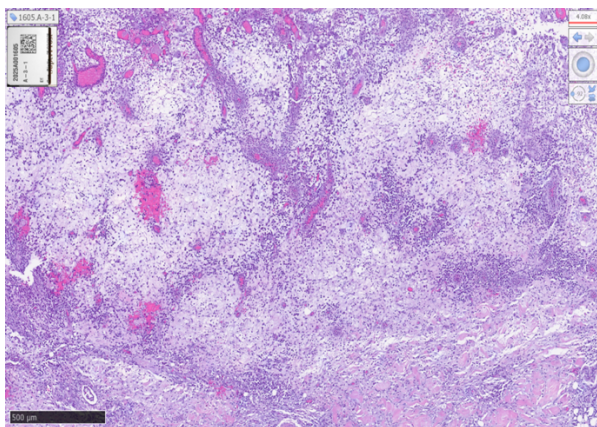


Figura 223: Ingrandimento a 4.08x, reazione linfocitaria peritumorale. Colorazione H&E.

- Caso 1606

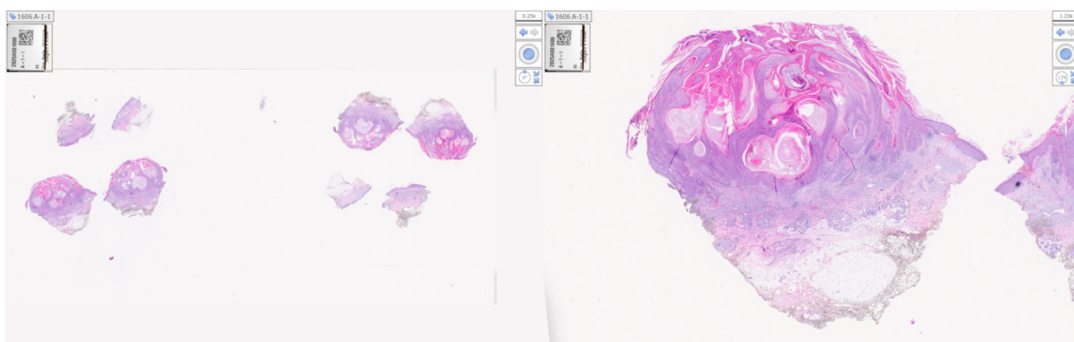


Figura 224: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.25x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento a 1.23x. Colorazione H&E.



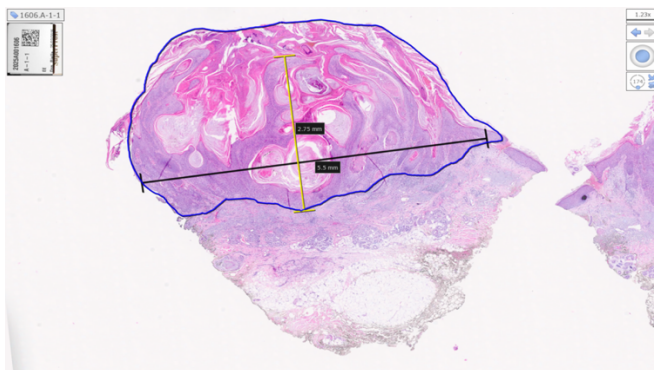


Figura 225: Preparato istologico con ingrandimento a 1.23x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione squamosa cheratinizzante, causata da cheratosi attinica, con aspetto esofitico ed endofitico.

Marcata ipercheratosi superficiale.

Stroma reattivo fibroso con infiltrato infiammatorio moderato. (Figura 226).

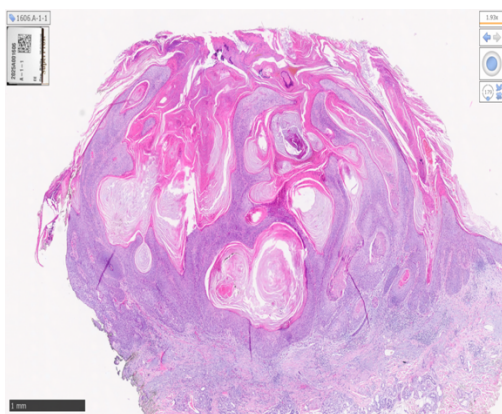


Figura 226: Ingrandimento a 1.93x, cheratinizzazione e ulcerazione superficiale epidermica. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 227);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 228);

Il grado istologico è compatibile con G1/G2.

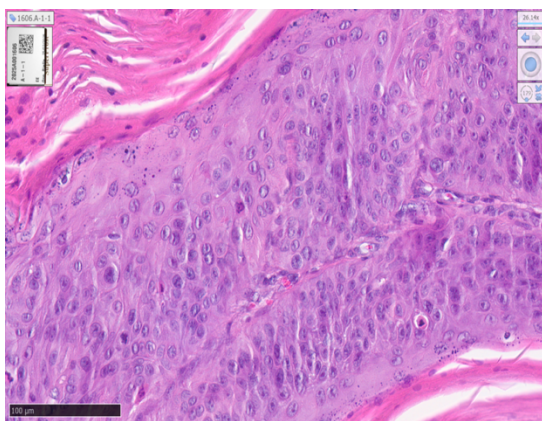


Figura 227: Ingrandimento a 26.14x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

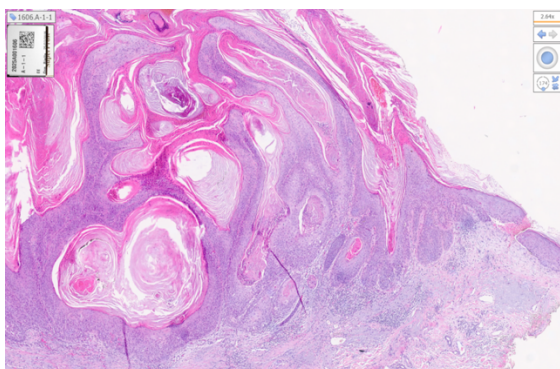


Figura 228: Ingrandimento a 2.64x, margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 229).

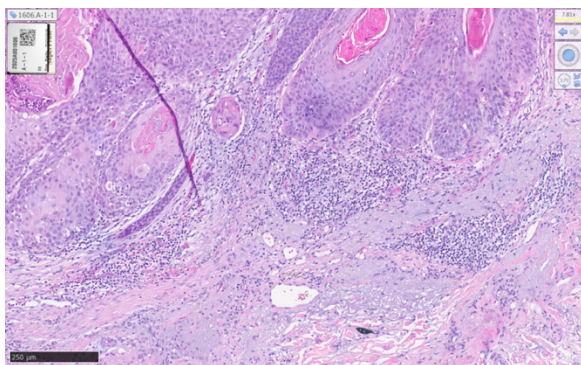


Figura 229: Ingrandimento a 7.81x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 2086

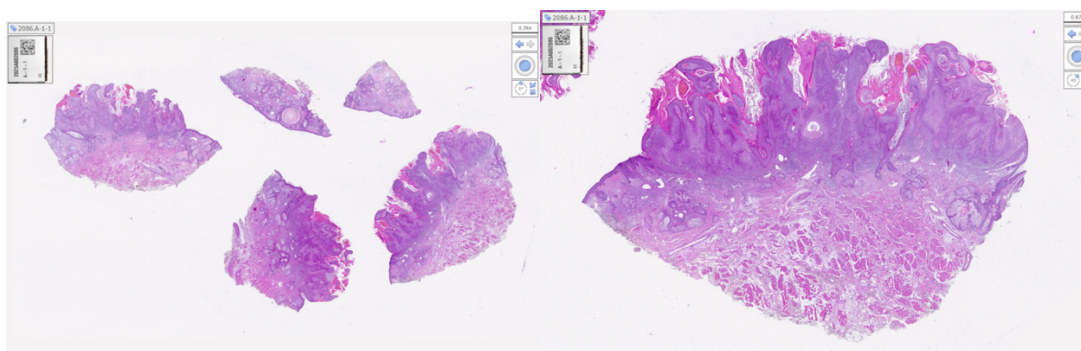


Figura 230: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.36x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento 0.87x. Colorazione H&E.

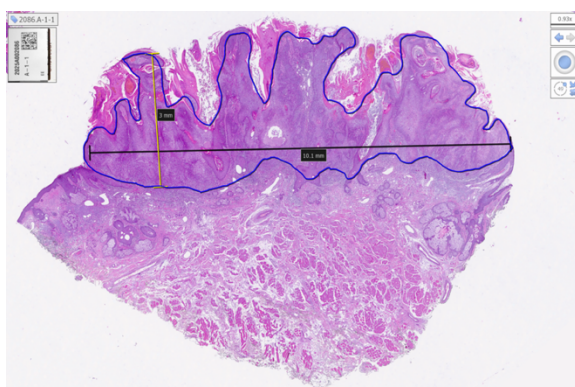


Figura 231: Preparato istologico con ingrandimento 0.93x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione cutanea esofitica, con architettura simmetrica ma irregolare, con proliferazione epiteliale squamosa ispessita.

La superficie appare irregolare, ipercheratosica, con cheratina compatta.

Nelle aree centrale l'epidermide appare ulcerata.

Nella parte profonda si osservano nidi tumorali che scendono nel derma, ma si osserva pattern di crescita prevalentemente espansivo.

La reazione stromale è moderata.

Ai lati e nel derma profondo si osservano strutture associate ad annessi cutanei. (Figura 232).



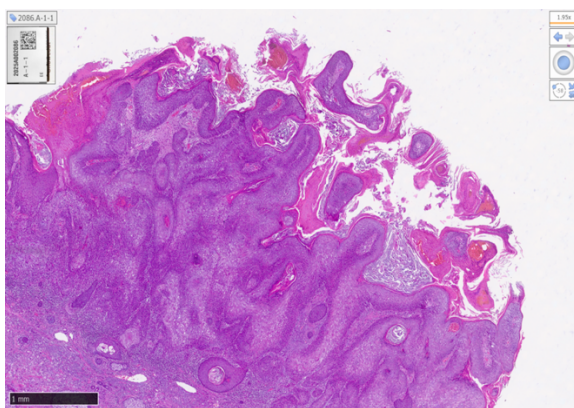


Figura 232: Ingrandimento a 1.95x, ulcerazione superficiale epidermica. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 233);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 234);

Il grado istologico è compatibile con G2.

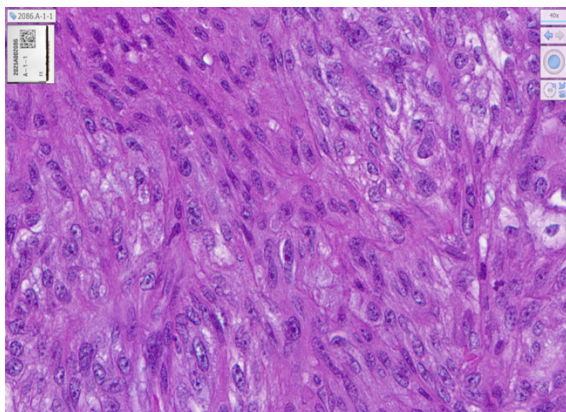


Figura 233: Ingrandimento a 40x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

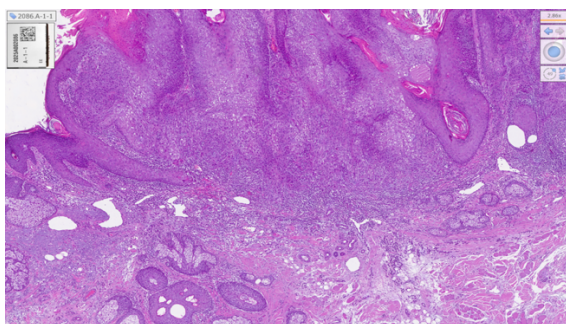


Figura 234: Ingrandimento a 2.86x, margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 235).

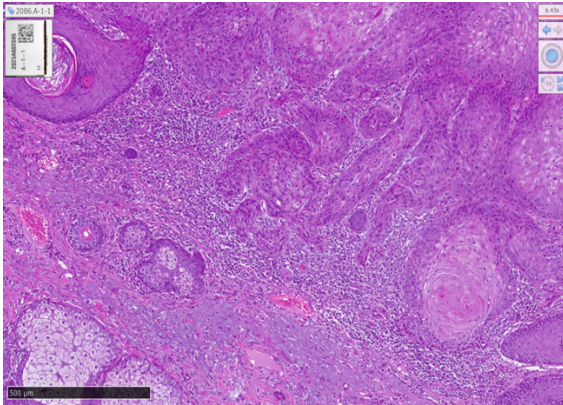


Figura 235: Ingrandimento a 6.43x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 2090

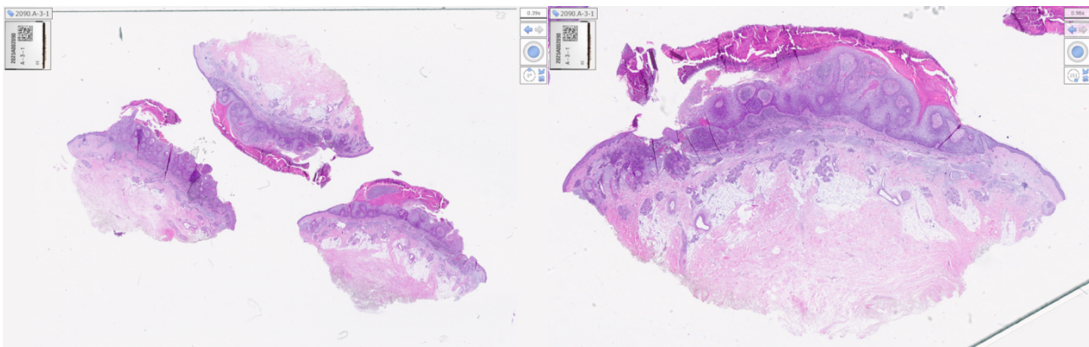


Figura 236: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.39x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento 0.96x. Colorazione H&E.

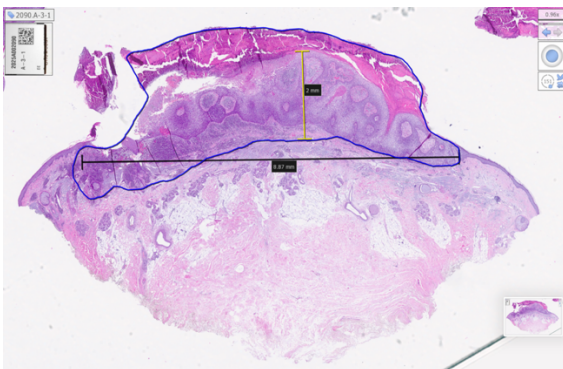


Figura 237: Preparato istologico a ingrandimento 0.96x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), area tumorale (blu). Colorazione H&E.



Analisi panoramica: Lesione squamosa ampia, cheratinizzante.

Si osserva marcata ipercheratosi superficiale.

L'architettura appare esofitica ed endofitica.

La componente epiteliale forma nidi ampi confluenti. L'invasione del derma è di tipo infiltrativo.

L'epidermide appare ulcerata.

Lo stroma sottostante è desmoplastico e infiammatorio, l'infiltrato linfocitario è intenso.

In profondità si osservano annessi cutanei conservati. (Figura 238).

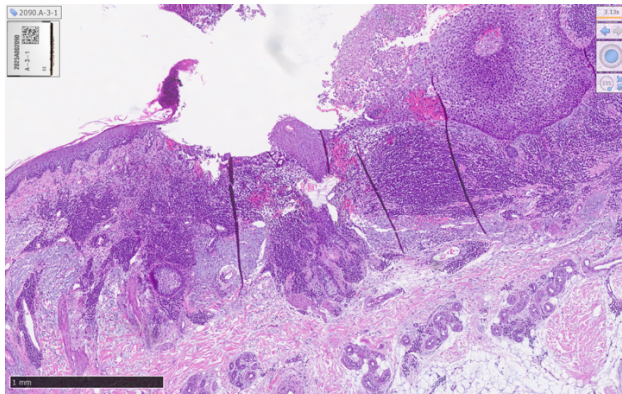


Figura 238: Ingrandimento a 3.13x, ulcerazione epidermica superficiale. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 239);

- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 240);

Il grado istologico è compatibile con G1/G2.

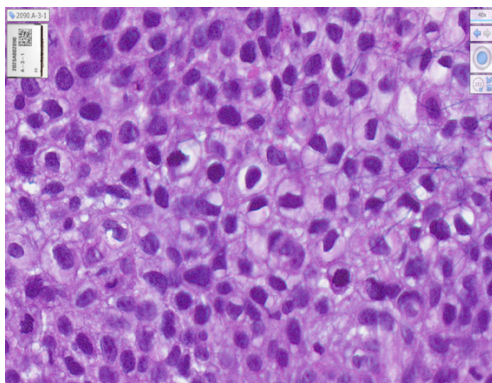


Figura 239: Ingrandimento 40x, atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

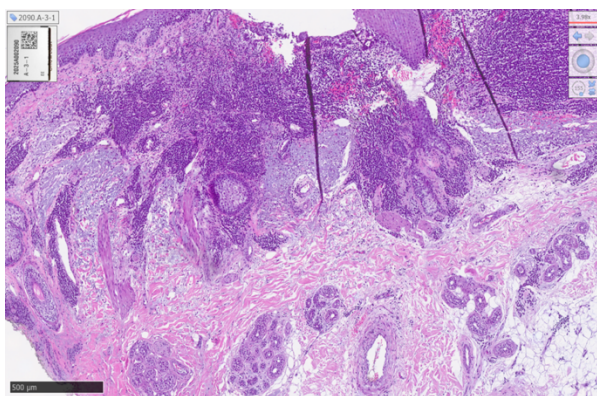


Figura 240: Ingrandimento a 3.98x, margini di accrescimento infiltrativi (nidi tumorali infiltranti nel derma). Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale marcata. (Figura 241).

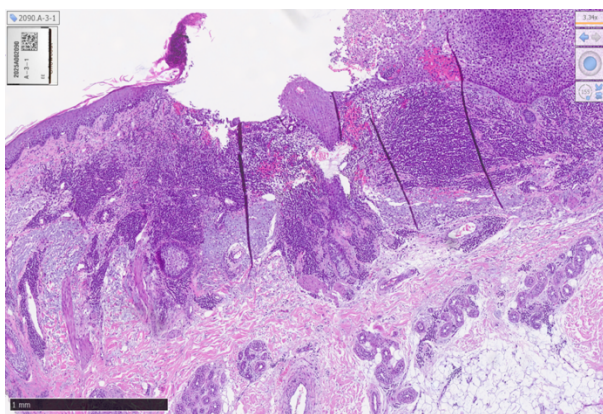


Figura 241: Ingrandimento a 3.34x, reazione linfocitaria intensa. Colorazione H&E.

- Caso 2208

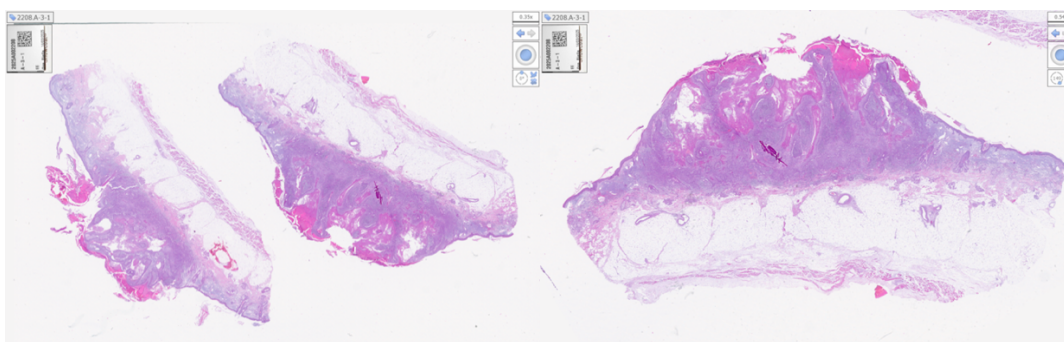


Figura 242: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.35x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento 0.54x. Colorazione H&E.

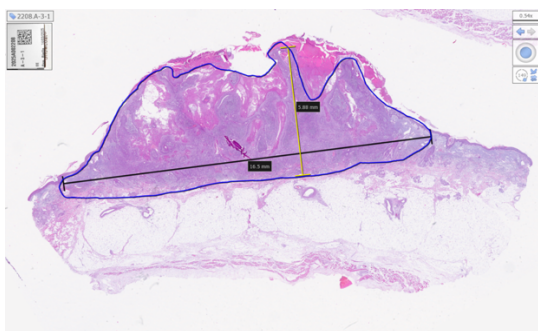


Figura 243: Preparato istologico a ingrandimento 0.54x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale squamosa ampia, ulcerata in superficie e ipercheratosica.

Superficie irregolare con marcata cheratinizzazione e una zona centrale di perdita della continuità compatibile con ulcerazione.

Proliferazione epiteliale squamosa estesa, con architettura endofitica ed esofitica.

Si osservano masse tumorali confluenti che invadono il derma, con margini prevalentemente espansivi.

La reazione linfocitaria peritumorale appare moderata. (Figura 244).

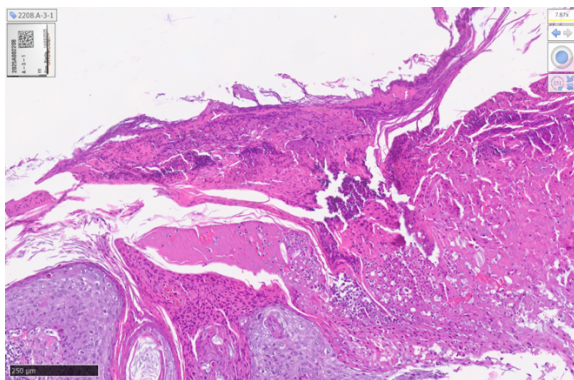


Figura 244: Ingrandimento a 7.87x, zona di ulcerazione superficiale ricca di linfociti. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale:

Si osservano:

-Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 245);

-Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 246);

Il grado istologico è compatibile con G2.



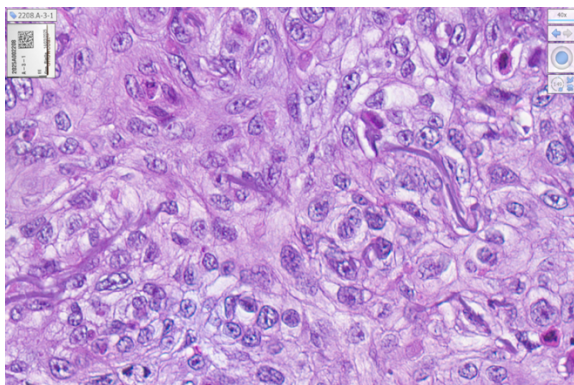


Figura 245: Ingrandimento 40x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

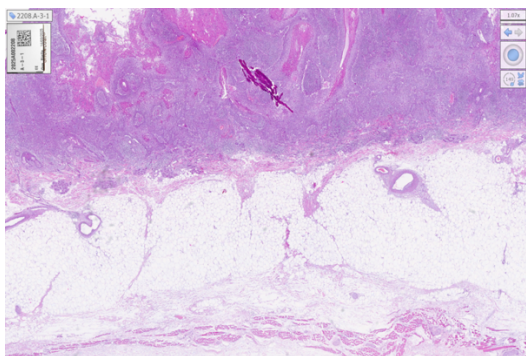


Figura 246: Ingrandimento a 1.07x, margini di accrescimento prevalentemente espansivo. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 247).

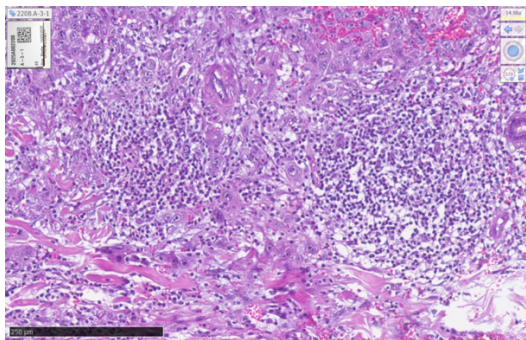


Figura 247: Ingrandimento a 14.98x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 2261

Campione non presente in archivio dell'ospedale.

- Caso 2463

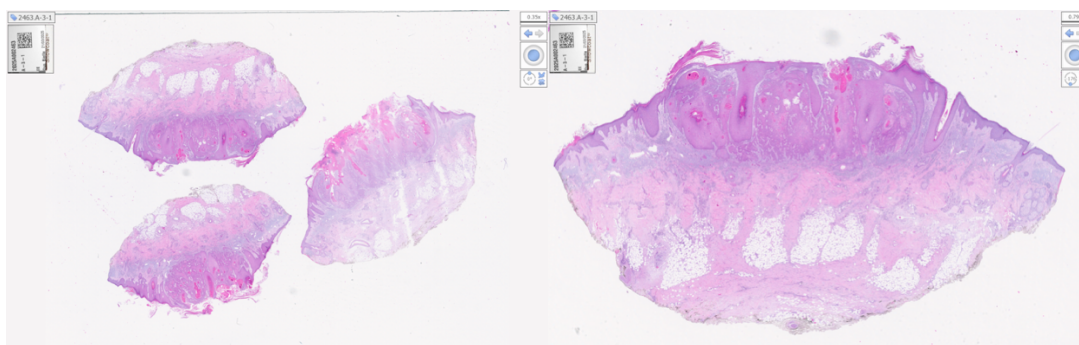


Figura 248: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.35x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento 0.79x. Colorazione H&E.

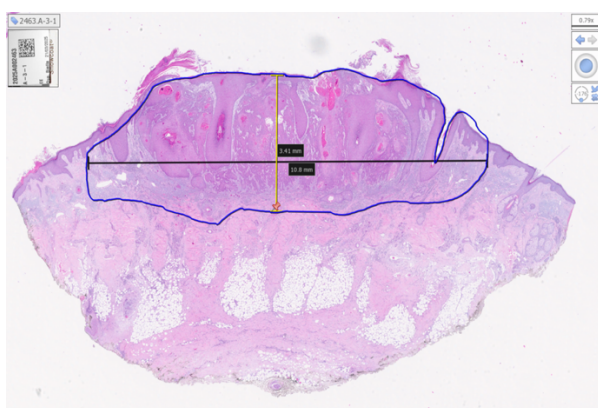


Figura 249: Preparato istologico a ingrandimento 0.79x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale squamosa esofitica ed endofitica con ampie digitazioni che scendono nel derma.

Architettura simmetrica, componente superficiale con ipercheratosi superficiale e aree di ulcerazione.

In profondità si osserva stroma fibroso e desmoplastico reattivo, con reazione linfocitaria peritumorale scarsa. (Figura 250).



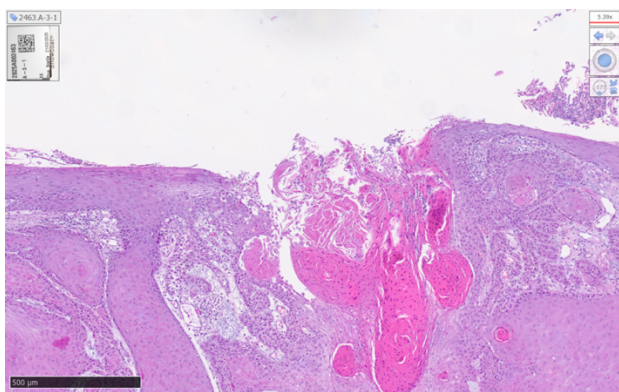


Figura 250: Ingrandimento a 5.39x, ulcerazione e cheratinizzazione superficiale. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 251);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 252);

Il grado istologico è compatibile con G2.

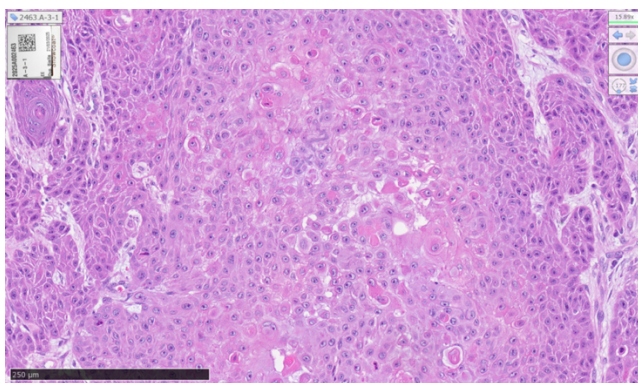


Figura 251: Ingrandimento a 15.89x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

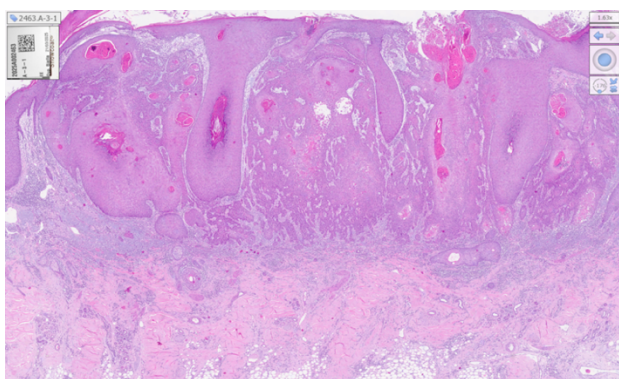


Figura 252: Ingrandimento a 1.63x, margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale scarsa. (Figura 253).

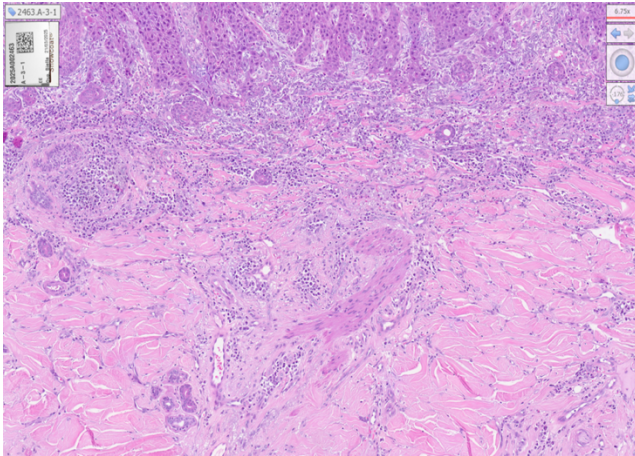


Figura 253: Ingrandimento a 6.75x, reazione linfocitaria peritumorale scarsa. Colorazione H&E.

- Caso 2515

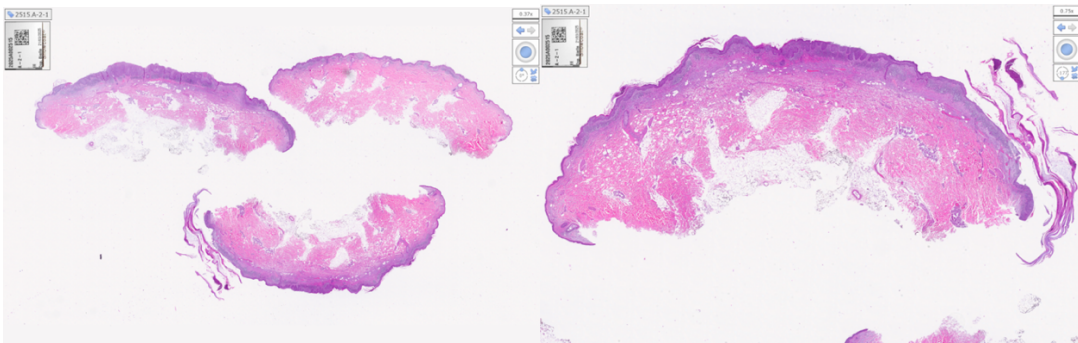


Figura 254: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento 0.37x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a 0.75x. Colorazione H&E.

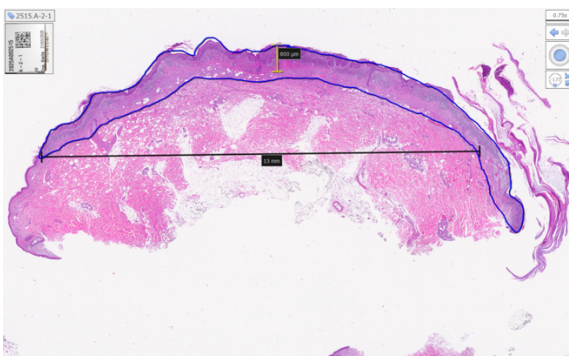


Figura 255: Preparato istologico a 0.75x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione epiteliale ampia e simmetrica.

Si osserva crescita endofitica e coinvolgimento nel derma.

L'epidermide è ispessita con presenza di cheratinizzazione.

Il pattern di crescita appare espansivo, in modo regolare.

Lo stroma appare fibroso e desmoplastico, con componente infiammatoria moderata.

Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata/marcata (Figura 256);

- Pattern di crescita espansivo (Figura 257);

Il grado istologico è compatibile con G2.

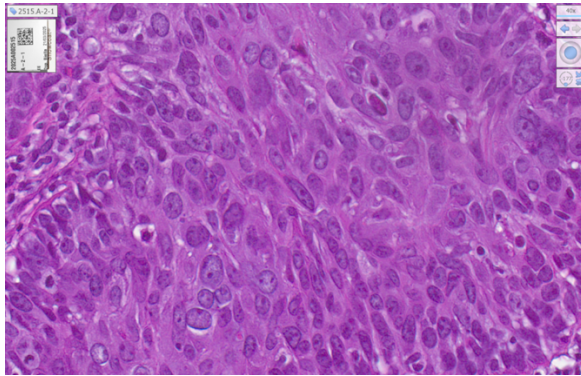


Figura 256: Ingrandimento 40x, atipia nucleare moderata/marcata. Colorazione H&E.

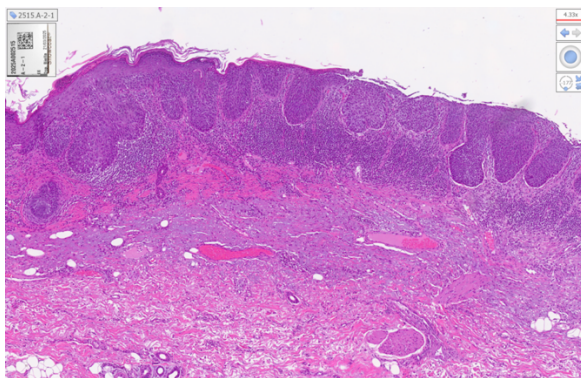


Figura 257: Ingrandimento 4.33x, margini di accrescimento espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

- Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 258).



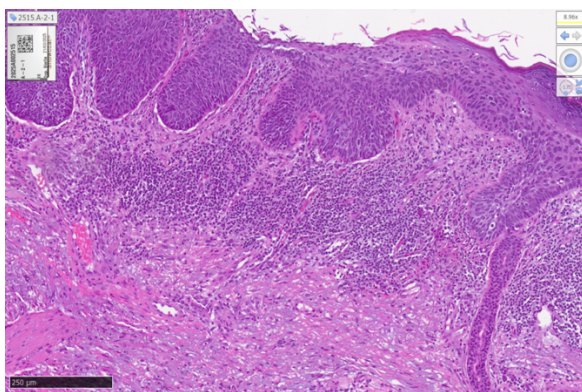


Figura 258: Ingrandimento a 8.96x, reazione linfocitaria moderata. Colorazione H&E.

- Caso 2792



Figura 259: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.33x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a 0.9x. Colorazione H&E.

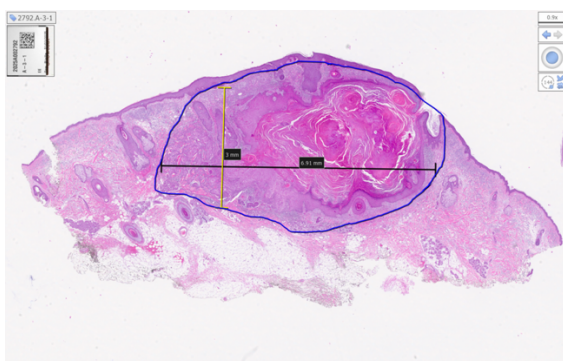


Figura 260: Preparato istologico a 0.9x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione squamosa molto cheratinizzante, ben delimitata e prevalentemente espansiva.

Si osserva una grossa componente cheratinica centrale e superficiale, con lamelle e perle cornee.

Lo stroma presenta una componente infiammatoria moderata. (Figura 261).

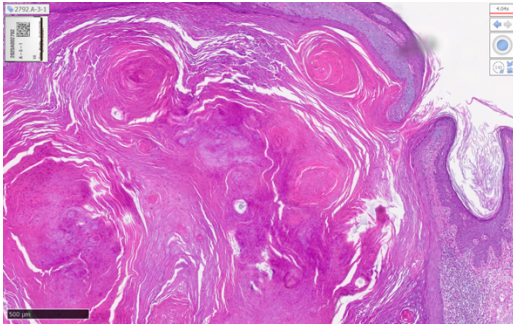


Figura 261: Ingrandimento a 4.04x, cheratinizzazione presente. Colorazione H&E  
Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare lieve/moderata (Figura 262);
- Pattern di crescita espansivo (Figura 263);

Il grado istologico è compatibile con G1.

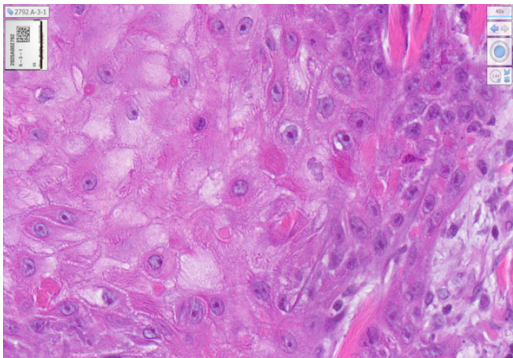


Figura 262: Ingrandimento 40x, atipia lieve/moderata. Colorazione H&E.

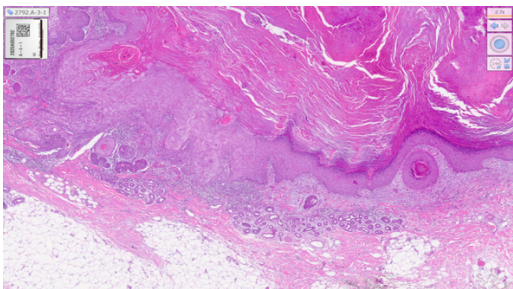


Figura 263: Ingrandimento 2.7x, margini di accrescimento espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

- Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 264).



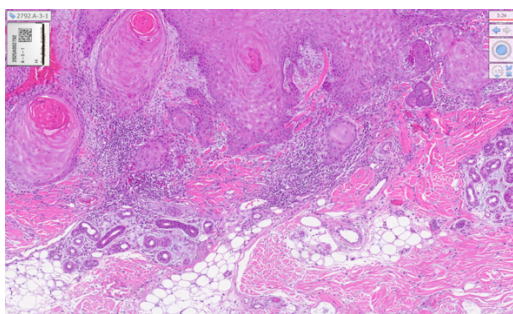


Figura 264: Ingrandimento a 5.2x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 2793

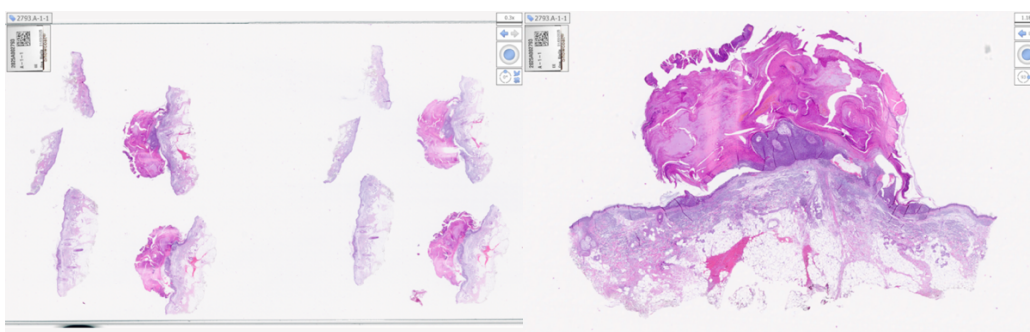


Figura 265: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.3x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico con ingrandimento 1.18x. Colorazione H&E.

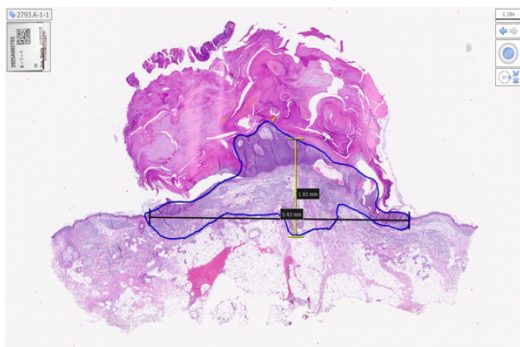


Figura 266: Preparato istologico con ingrandimento 1.18x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione squamosa cheratinizzante con sviluppo esofitico.

Si osserva una componente superficiale ipercheratosica, al di sotto una proliferazione epiteliale compatta.

Il pattern di crescita è prevalentemente espansivo.

La reazione stromale è fibrosa e desmoplastica, con reazione linfocitaria moderata. (Figura 267).

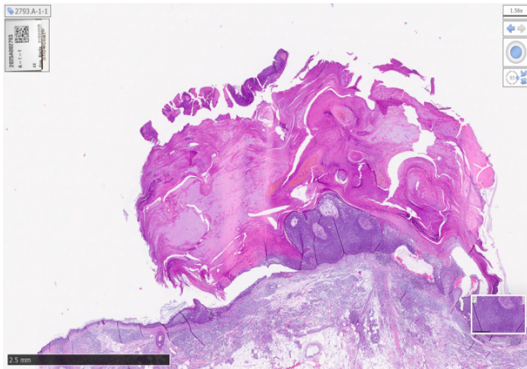


Figura 267: Ingrandimento a 1.56x, cheratosi attinica. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 268);
- Pattern di crescita prevalentemente espansivo (Figura 269);

Il grado istologico è compatibile con G1/G2.

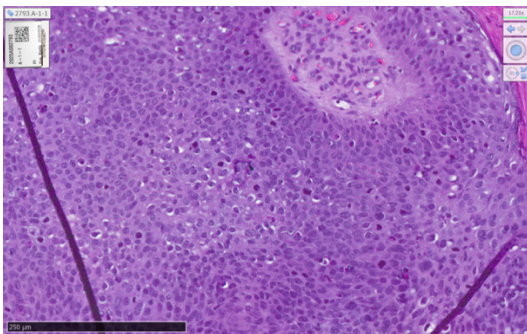


Figura 268: Ingrandimento a 17.21x, atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

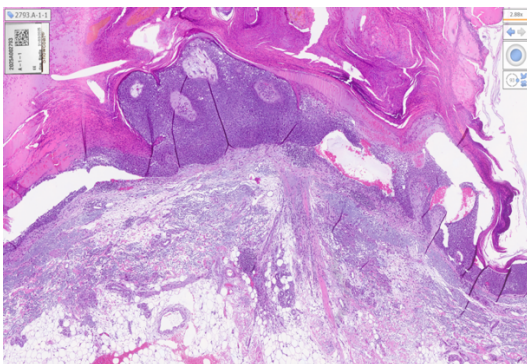


Figura 269: Ingrandimento a 2.88x, margini di accrescimento prevalentemente espansivi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 270).

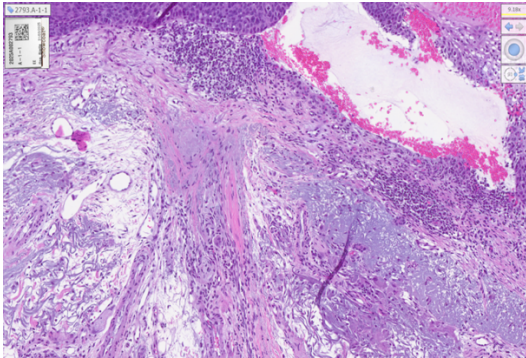


Figura 270: Ingrandimento a 9.18x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 3050



Figura 271: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.3x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento a 2.5x. Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Epidermide ispessita, irregolare e cheratinizzata.

Ipercheratosi superficiale modesta.

Infiltrato infiammatorio moderato.

Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

-Cellule neoplastiche con atipia nucleare lieve/moderata (Figura 272);

-Pattern di crescita espansivo (Figura 273);

Il grado istologico è compatibile con G2.

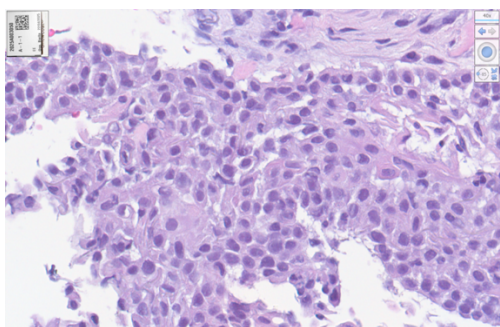


Figura 272: Ingrandimento 40x, atipia nucleare lieve/moderata. Colorazione H&E.

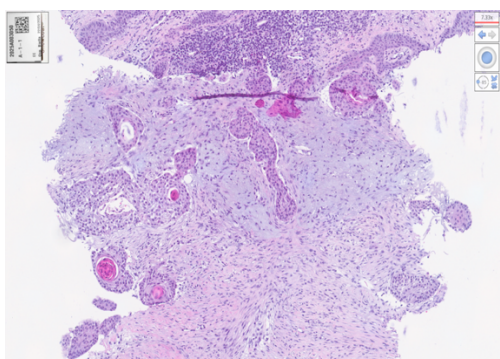


Figura 273: Ingrandimento 7.33x, Nidi e cordoni di cellule squamose nel derma. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata. (Figura 274).

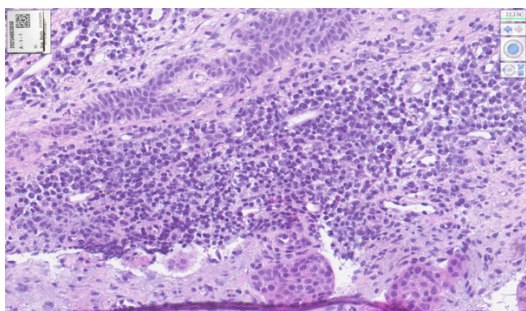


Figura 274: Ingrandimento a 22.13x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.



- Caso 3126

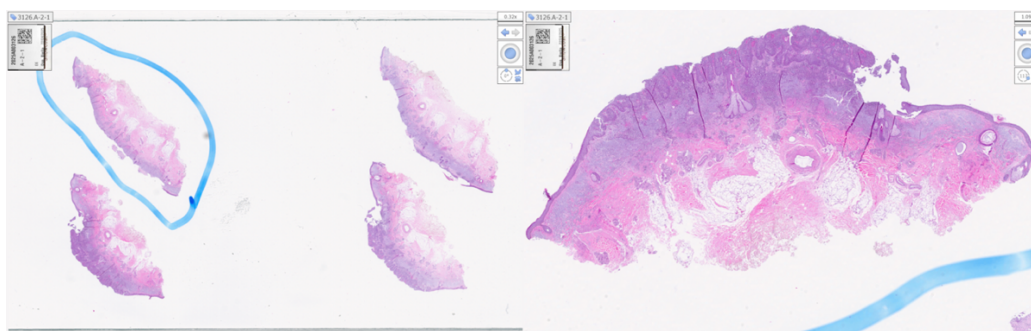


Figura 275: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.32x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento 1.09x. Colorazione H&E.

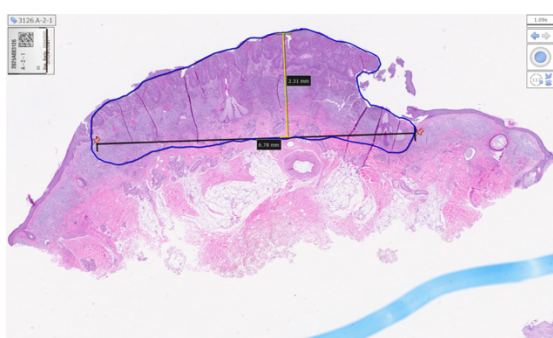


Figura 276: Preparato istologico a 1.09x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione prevalentemente superficiale ed epidermica, con focolai di estensione nel derma.

Epidermide diffusamente ispessita e disorganizzata, compatibile con una componente in situ. La superficie appare irregolare, e sul lato destro si osserva perdita della continuità epidermica e ulcerazione.

Nel derma superficiale e medio è presente infiltrato infiammatorio moderato.

In profondità si osservano strutture annessiali cutanee. (Figura 277).



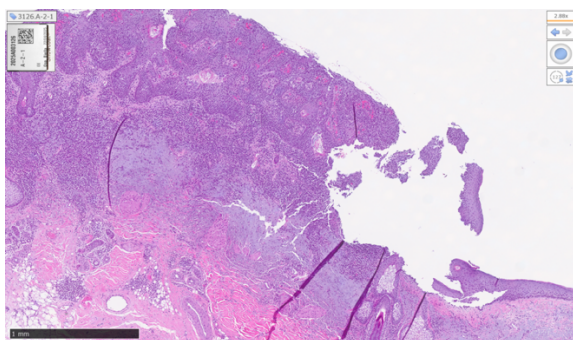


Figura 277: Ingrandimento a 2.88x, ulcerazione superficiale epidermica. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare lieve/moderata (Figura 278);
- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 279);

Il grado istologico è compatibile con G2.

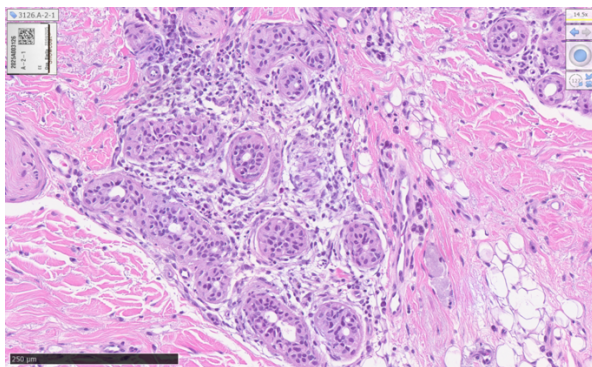


Figura 278: Ingrandimento a 14.5x, atipia lieve/moderata. Colorazione H&E.

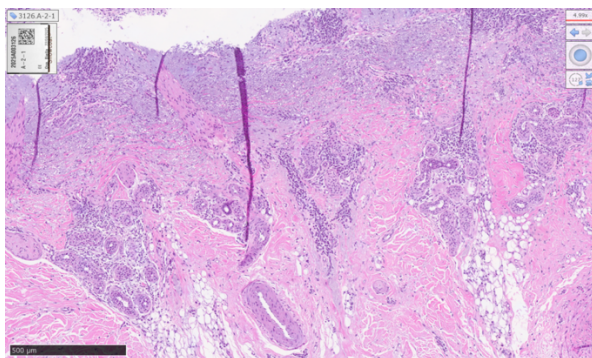


Figura 279: Ingrandimento a 4.99x, margini di accrescimento infiltrativi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:

- Reazione linfocitaria peritumorale moderata. (Figura 280).

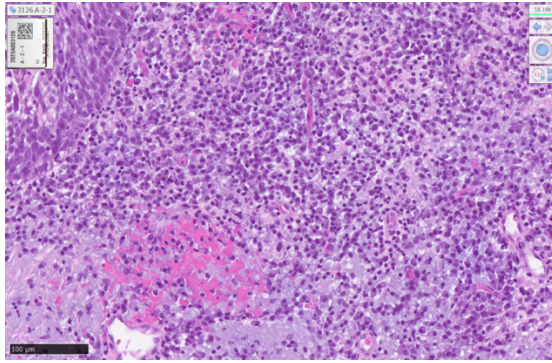


Figura 280: Ingrandimento a 18.19x, reazione linfocitaria peritumorale moderata. Colorazione H&E.

- Caso 3519

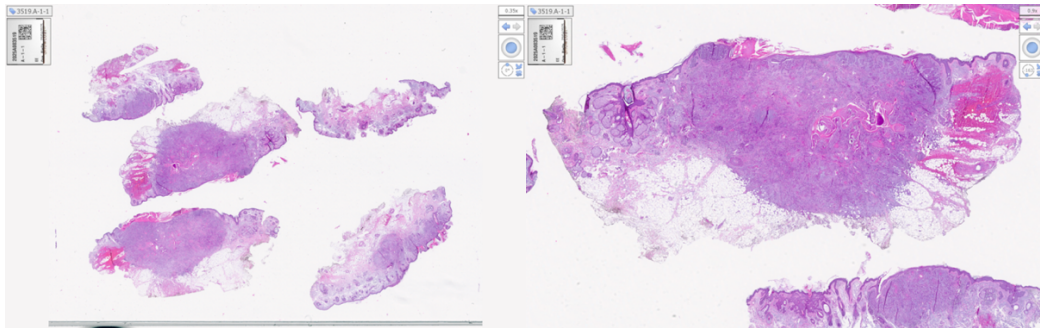


Figura 281: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.35x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a 0.9x. Colorazione H&E.

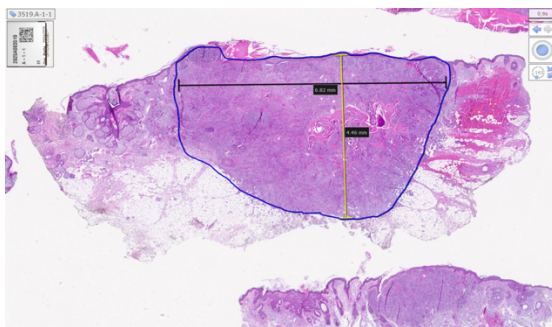


Figura 282: Preparato istologico a 0.9x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo), e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione ampia, asimmetrica e infiltrante.

L'epidermide superficiale appare ulcerata e con cheratinizzazione marcata con perle cornee ben visibili.

L'infiltrazione arriva in profondità nel sottocute.

Lo stroma appare desmoplastico e fibroso attorno ai nidi tumorali, con reazione linfocitaria scarsa. (Figura 283).

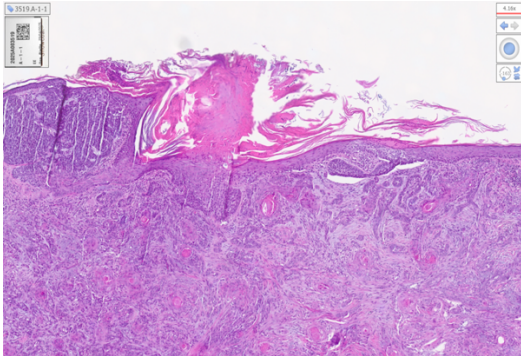


Figura 283: Ingrandimento a 4.16x, cheratinizzazione presente. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 284);
- Pattern di crescita infiltrativo (Figura 285);

Il grado istologico è compatibile con G2.

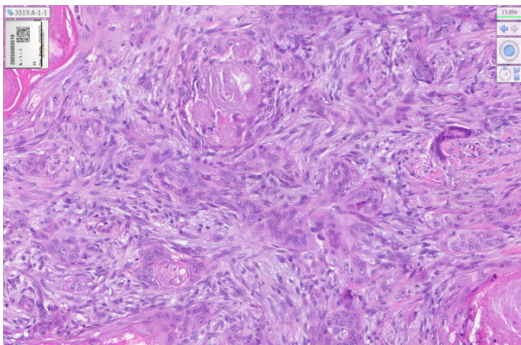


Figura 284: Ingrandimento a 15.89x, atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

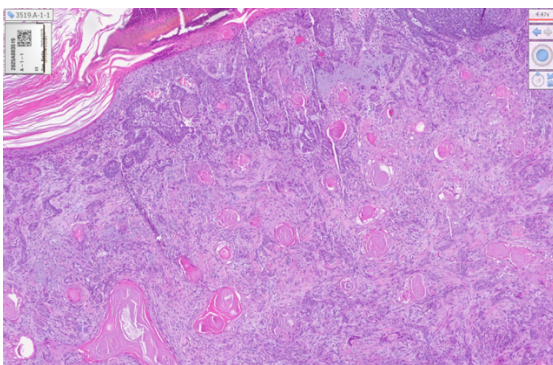


Figura 285: Ingrandimento a 4.47x, margini di accrescimento infiltrativi. Colorazione H&E.

Microambiente tumorale:



-Reazione linfocitaria peritumorale scarsa. (Figura 286).

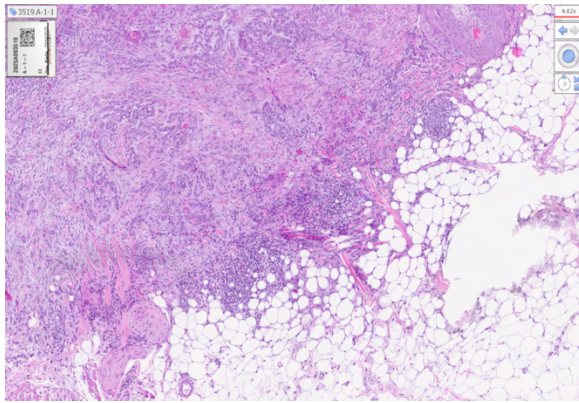


Figura 286: Ingrandimento a 4.62x, reazione linfocitaria scarsa. Colorazione H&E.

- Caso 3523

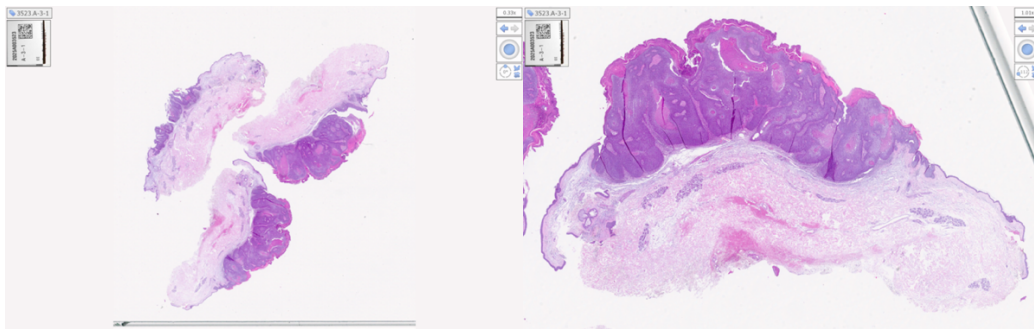


Figura 287: A sinistra, visione globale del vetrino digitale. Ingrandimento a 0.33x. Colorazione H&E, a destra, preparato istologico a ingrandimento a 1.01x. Colorazione H&E.

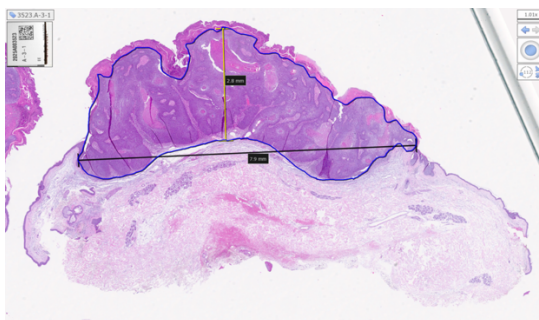


Figura 288: Preparato istologico a ingrandimento 1.01x, con misure: dimensione radiale massima (nero), spessore massimo di infiltrazione (giallo) e area tumorale (blu). Colorazione H&E.

Analisi panoramica: Lesione esofitica, su cheratosi attinica, con ampie digitazioni e noduli epiteliali squamosi che protrudono nel derma in modo regolare.

Proliferazione squamosa moderatamente differenziata.

La crescita appare espansiva.

Il derma sottostante appare fibroso con vasi e annessi cutanei residui.

La reazione linfocitaria è scarsa.

Si segnala anche la presenza di un nido nevico intradermico. (Figura 289).

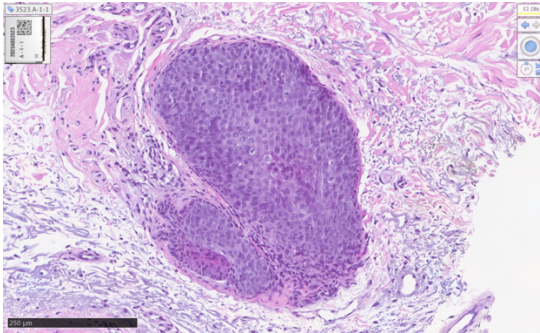


Figura 289: Ingrandimento a 12.18x, nido nevico intradermico. Colorazione H&E.

Valutazione morfologica digitale.

Si osservano:

- Cellule neoplastiche con atipia nucleare moderata (Figura 290);

- Pattern di crescita espansivo (Figura 291);

Il grado istologico è compatibile con G2.

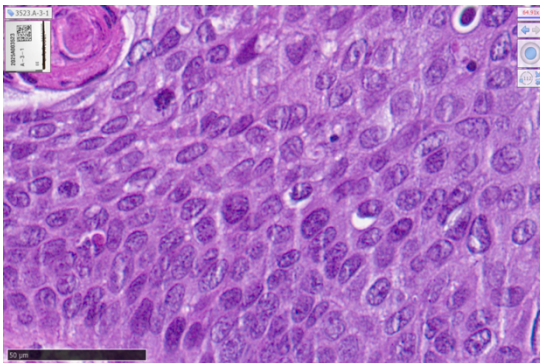


Figura 290: Ingrandimento a 64.91x, atipia nucleare moderata. Colorazione H&E.

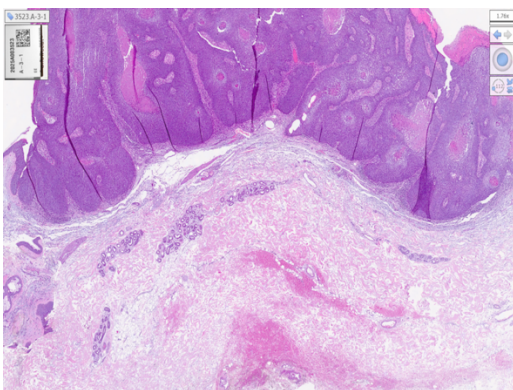


Figura 291: Ingrandimento a 1.76x, margini di accrescimento espansivi. Colorazione H&E.



Microambiente tumorale:

-Reazione linfocitaria peritumorale scarsa. (Figura 292).

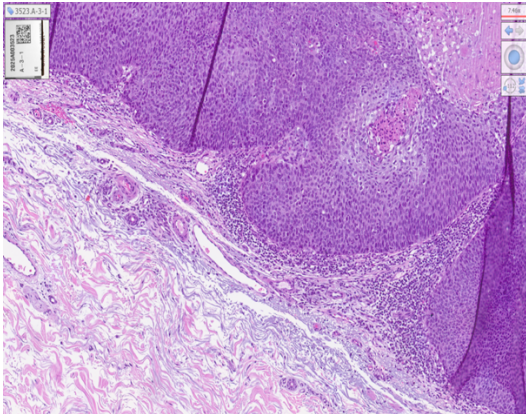


Figura 292: Ingrandimento a 7.46x, reazione linfocitaria peritumorale scarsa. Colorazione H&E.

## 4. RISULTATI E DISCUSSIONE

In questo paragrafo verranno descritti i dati in modo oggettivo, con concordanze, differenze e discrepanze tra le due modalità, frequenze dei parametri osservati.

Per ogni ID caso verranno confrontati i due metodi: qualità dell'immagine, facilità di osservazione, identificazione delle caratteristiche istologiche, differenze diagnostiche e interpretative.

Infine, l'interpretazione dei risultati, con la descrizione dei vantaggi e i punti di forza della Digital Pathology, quali sono i limiti emersi, e in quali aspetti la microscopia ottica resta più efficace.

I grafici e le tabelle contenenti i dati sotto descritti, si possono osservare nel paragrafo 7.6.

### 4.1. Analisi statistica

| <b>Indicatore</b>           | <b>Valore</b> |
|-----------------------------|---------------|
| Numero totale di casi       | 30            |
| Pazienti di sesso maschile  | 18            |
| Pazienti di sesso femminile | 12            |
| Età media                   | 82,9 anni     |
| Età mediana                 | 84,5 anni     |

Tabella 6: Caratteristiche generali del campione: lo studio ha incluso complessivamente 30 casi di carcinoma squamocellulare cutaneo, valutati mediante microscopia ottica e successivamente mediante Digital Pathology. Per ciascun caso sono stati confrontati parametri morfologici, morfometrici e prognostici.

#### 4.1.1. Distribuzione delle categorie di rischio

| <b>Categoria di rischio</b> | <b>MO n</b> | <b>MO %</b> | <b>DP n</b> | <b>DP %</b> |
|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Basso                       | 8           | 26,7        | 2           | 6,7         |
| Basso-intermedio            | 3           | 10,0        | 11          | 36,7        |
| Intermedio                  | 10          | 33,3        | 9           | 30,0        |
| Intermedio-alto             | 7           | 23,3        | 5           | 16,7        |
| Alto                        | 2           | 6,7         | 3           | 10,0        |

Tabella 7: Distribuzione delle categorie di rischio in microscopia ottica e Digital Pathology: con la valutazione digitale si osserva una riduzione dei casi classificati come a basso rischio e un aumento dei casi classificati come basso-intermedio.

#### 4.1.2. Confronto della stratificazione prognostica tra i due metodi

| <b>Esito del confronto</b>    | <b>n</b> | <b>%</b> |
|-------------------------------|----------|----------|
| Concordante                   | 12       | 40,0     |
| Digital Pathology più severa  | 10       | 33,3     |
| Digital Pathology meno severa | 8        | 26,7     |

Tabella 8: Variazione della categoria di rischio dopo la valutazione digitale: la categoria di rischio è risultata concordante in 12 casi su 30, pari al 40,0%. In 10 casi, pari al 33,3%, la Digital Pathology ha determinato una classificazione più severa rispetto alla microscopia ottica. In 8 casi, pari al 26,7%, la Digital Pathology ha invece portato a una classificazione meno severa.

#### 4.1.3. Matrice di riclassificazione del rischio

| <b>Rischio MO \ Rischio DP</b> | <b>Basso</b> | <b>Basso-intermedio</b> | <b>Intermedio</b> | <b>Intermedio-alto</b> | <b>Alto</b> |
|--------------------------------|--------------|-------------------------|-------------------|------------------------|-------------|
| Basso                          | 1            | 5                       | 2                 | 0                      | 0           |
| Basso-intermedio               | 1            | 2                       | 0                 | 0                      | 0           |
| Intermedio                     | 0            | 3                       | 5                 | 1                      | 1           |
| Intermedio-alto                | 0            | 1                       | 2                 | 3                      | 1           |
| Alto                           | 0            | 0                       | 0                 | 1                      | 1           |

Tabella 9: Variazione classificazione del rischio: la Digital Pathology non ha determinato esclusivamente un aumento della categoria di rischio, ma ha prodotto una riclassificazione bidirezionale: in alcuni casi verso categorie più severe, in altri verso categorie meno severe.

#### 4.1.4. Concordanza dei parametri morfologici

| <b>Parametro</b>                   | <b>Concordanza n</b> | <b>Concordanza %</b> |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|
| Grado istologico                   | 25                   | 83,3                 |
| Atipia nucleare                    | 23                   | 76,7                 |
| Ulcerazione                        | 25                   | 83,3                 |
| Margini di accrescimento           | 26                   | 86,7                 |
| Reazione linfocitaria peritumorale | 24                   | 80,0                 |

Tabella 10: Concordanza percentuale dei parametri morfologici: la concordanza tra microscopia ottica e Digital Pathology è risultata complessivamente buona per i principali parametri morfologici. La maggiore concordanza è stata osservata per i margini di accrescimento, mentre la minore concordanza è stata rilevata per l'atipia nucleare.

#### 4.1.5. Confronto morfometrico tra microscopia ottica e Digital Pathology

| <b>Parametro morfometrico</b>  | <b>Media MO</b> | <b>Media DP</b> | <b>Mediana MO</b> | <b>Mediana DP</b> | <b>Δ medio DP-MO</b> |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|----------------------|
| Dimensione radiale, mm         | 7,97            | 9,39            | 7,00              | 9,13              | +1,42                |
| Spessore massimo, mm           | 3,13            | 3,49            | 2,00              | 3,00              | +0,36                |
| Area tumorale, mm <sup>2</sup> | 23,55           | 30,08           | 14,00             | 20,40             | +6,52                |

Tabella 11: Confronto dei parametri morfometrici: Dal punto di vista morfometrico, la Digital Pathology ha mostrato valori medi superiori rispetto alla microscopia ottica per dimensione radiale, spessore massimo e area tumorale. La differenza media maggiore riguarda l'area tumorale, che risulta superiore nella Digital Pathology di circa 6,52 mm<sup>2</sup>. Anche la dimensione radiale media appare maggiore nella valutazione digitale, mentre la differenza dello spessore massimo è più contenuta.

#### 4.1.6. Correlazione tra le misurazioni ottenute con le due metodiche

| <b>Parametro</b>                  | <b>Valore di correlazione r</b> |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Dimensione radiale                | 0,81                            |
| Spessore massimo di infiltrazione | 0,74                            |
| Area tumorale                     | 0,89                            |

Tabella 12: Correlazione tra microscopio ottico e Digital Pathology: I valori di correlazione indicano una buona associazione tra le due metodiche. La correlazione più elevata è stata osservata per l'area tumorale, mentre quella più bassa, pur rimanendo buona, riguarda lo spessore massimo di infiltrazione.

#### 4.1.7. Fattori prognostici sfavorevoli rilevati in Digital Pathology

| <b>Fattore sfavorevole in DP</b>            | <b>n</b> | <b>%</b> |
|---------------------------------------------|----------|----------|
| Ulcerazione presente                        | 18       | 60,0     |
| Margini infiltrativi / pattern infiltrativo | 12       | 40,0     |
| Spessore massimo > 2 mm                     | 20       | 66,7     |
| Atipia moderata-marcata / marcata           | 12       | 40,0     |
| Reazione linfocitaria scarsa/assente        | 10       | 33,3     |

Tabella 13: Frequenza dei fattori sfavorevoli in Digital Pathology: il fattore sfavorevole più frequentemente osservato è stato lo spessore massimo superiore a 2 mm, presente nel 66,7% dei casi. L'ulcerazione è stata rilevata nel 60,0% dei casi, mentre pattern infiltrativo e atipia moderata-marcata o marcata sono stati osservati nel 40,0% dei casi.

#### 4.1.8. Volume tumorale stimato mediante Digital Pathology

| Aspetto valutato                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Significato                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Metodo disponibile                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Solo Digital Pathology                                         |
| Utilità                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Quantificazione del carico tumorale                            |
| Applicazione                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Confronto tra casi e supporto alla stratificazione prognostica |
| Limite                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Non confrontabile direttamente con microscopia ottica          |
| Tabella 14: Significato del volume tumorale stimato: un parametro disponibile esclusivamente nella valutazione digitale è stato il volume tumorale stimato. Questo dato consente di aggiungere una valutazione quantitativa del carico tumorale complessivo, non ottenibile con la sola microscopia ottica tradizionale. |                                                                |

#### 4.1.9. Interpretazione dei risultati

| Aspetto                                  | Risultato principale                  | Interpretazione                                              |
|------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Categoria di rischio                     | Concordante nel 40% dei casi          | Buona concordanza, ma frequente riclassificazione            |
| Riclassificazione verso rischio maggiore | 33,3%                                 | DP più sensibile nel rilevare estensione, spessore o atipia  |
| Riclassificazione verso rischio minore   | 26,7%                                 | DP utile anche nel ridimensionare reperti dubbi              |
| Parametri morfologici                    | Concordanza 76,7–86,7%                | Buona riproducibilità qualitativa                            |
| Parametri morfometrici                   | Valori medi superiori in DP           | Maggiore precisione nella delimitazione della lesione        |
| Volume tumorale                          | Disponibile solo in DP                | Parametro aggiuntivo per il carico tumorale                  |
| Limite principale                        | Dipendenza dalla qualità del campione | DP non compensa campioni insufficienti o non rappresentativi |

Tabella 15: Sintesi interpretativa del confronto tra i due metodi.



#### 4.1.10. Confronto complessivo

| <b>Aspetto</b>                       | <b>Microscopia ottica</b>                 | <b>Digital Pathology</b>                                   |
|--------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Valutazione morfologica tradizionale | Metodo di riferimento                     | Buona concordanza con MO                                   |
| Misurazione di spessore e area       | Più operatore-dipendente                  | Più standardizzabile                                       |
| Valutazione dell'intera sezione      | Manuale e sequenziale                     | Più facilmente navigabile                                  |
| Stima del volume tumorale            | Non disponibile                           | Disponibile                                                |
| Identificazione di aree focali       | Possibile, ma dipendente dall'osservatore | Facilitata dalla scansione digitale                        |
| Riproducibilità                      | Variabile                                 | Potenzialmente maggiore                                    |
| Limite principale                    | Stima manuale e soggettività              | Dipendenza da qualità del vetrino e criteri di misurazione |

Tabella 16: Confronto complessivo delle due metodiche.

L'analisi comparativa dei 30 casi ha mostrato che la Digital Pathology presenta una buona concordanza con la microscopia ottica nella valutazione dei principali parametri morfologici. La categoria di rischio è risultata concordante nel 40,0% dei casi, mentre nel restante 60,0% si è osservata una riclassificazione prognostica.

La Digital Pathology ha determinato una valutazione più severa nel 33,3% dei casi e meno severa nel 26,7%, dimostrando che la metodica digitale non comporta semplicemente un aumento della categoria di rischio, ma consente una rivalutazione più precisa dei parametri osservati.

Dal punto di vista morfometrico, la Digital Pathology ha fornito valori medi superiori per dimensione radiale, spessore e area tumorale. Inoltre, ha permesso la stima del volume tumorale, parametro non disponibile nella microscopia ottica tradizionale.

Nel complesso, i risultati indicano che la Digital Pathology rappresenta uno strumento utile per integrare la microscopia ottica, migliorando la standardizzazione delle misurazioni, la documentazione dell'estensione tumorale e la stratificazione prognostica del carcinoma squamocellulare cutaneo.

## 4.2. Vantaggi e limiti riscontrati

| Aspetto valutato                     | Vantaggio della Digital Pathology                                            | Limite riscontrato                                                             |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Misurazioni morfometriche            | Maggiore precisione nella valutazione di dimensione radiale, spessore e area | Necessità di criteri di misurazione standardizzati                             |
| Volume tumorale                      | Possibilità di stimare il volume tumorale                                    | Non confrontabile direttamente con microscopia ottica                          |
| Pattern di crescita                  | Migliore visualizzazione di aree focali infiltrative                         | Rischio di sovrainterpretare irregolarità focali                               |
| Atipia nucleare                      | Maggiore dettaglio citologico                                                | Possibile variabilità interpretativa, soprattutto in presenza di infiammazione |
| Ulcerazione                          | Migliore documentazione della superficie lesionale                           | Difficile distinzione tra vera ulcerazione, crosta o artefatti                 |
| Reazione linfocitaria                | Valutazione più ampia dell'infiltrato peritumorale                           | Difficoltà nel graduare in modo oggettivo l'intensità                          |
| Invasione perineurale/angioinvasione | Possibilità di rivedere aree sospette e ridurre dubbi                        | Reperti focali possono restare difficili da confermare                         |
| Campione istologico                  | Migliore navigazione dell'intero vetrino                                     | Non compensa campioni insufficienti o non rappresentativi                      |

Tabella 17: Vantaggi e limiti della Digital Pathology.

| Vantaggio                                     | Implicazione diagnostico-prognostica                        |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Misurazioni più precise                       | Migliore definizione di spessore, area e dimensione radiale |
| Valutazione dell'intero vetrino digitalizzato | Minore rischio di sottostimare aree focali                  |
| Stima del volume tumorale                     | Informazione quantitativa aggiuntiva sul carico tumorale    |
| Maggiore documentazione del caso              | Possibilità di archiviazione, confronto e revisione         |
| Supporto alla standardizzazione               | Maggiore riproducibilità tra osservatori                    |
| Identificazione di aree eterogenee            | Migliore stratificazione del rischio nei casi complessi     |

Tabella 18: Vantaggi Digital Pathology.

| Limite                                          | Possibile conseguenza                                                      |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| Qualità del campione non sempre adeguata        | Impossibilità di misurare correttamente alcuni parametri                   |
| Differenze nei criteri di misurazione           | Possibile discrepanza tra MO e DP                                          |
| Reperti focali difficili da confermare          | Variabilità nell'interpretazione di invasione perineurale o angioinvasione |
| Ulcerazione e croste cheratiniche               | Possibile discordanza nella valutazione dell'ulcerazione                   |
| Infiammazione intensa                           | Può rendere più complessa la valutazione dell'atipia                       |
| Assenza di criteri standardizzati per il volume | Parametro promettente ma ancora da validare                                |

Tabella 19: Limiti Digital Pathology.

I limiti osservati riguardano soprattutto la necessità di standardizzare i criteri di misurazione e interpretazione. In alcuni casi, infatti, le differenze tra microscopia ottica e Digital Pathology sono risultate legate non tanto a una reale discordanza diagnostica, quanto al diverso metodo di delimitazione della lesione. Inoltre, la presenza di campioni insufficienti, sezioni non ottimali, ulcerazione, croste cheratiniche o intensa infiammazione può influenzare l'interpretazione anche in ambiente digitale.

Nel complesso, la Digital Pathology si configura come uno strumento complementare alla microscopia ottica. Il suo principale valore non risiede nella sostituzione della valutazione tradizionale, ma nella possibilità di renderla più quantitativa, documentabile e riproducibile. La metodica digitale permette infatti di integrare il giudizio morfologico con dati numerici più precisi, contribuendo a una migliore stratificazione prognostica del carcinoma squamocellulare cutaneo.

Allo stesso tempo, i risultati ottenuti confermano che la Digital Pathology deve essere interpretata criticamente. La maggiore risoluzione e la possibilità di analizzare dettagli molto fini possono portare sia all'identificazione di elementi sfavorevoli non evidenti alla microscopia ottica, sia alla rivalutazione di reperti inizialmente considerati sospetti. Per questo motivo, il dato digitale deve sempre essere integrato con il contesto istopatologico complessivo e con la qualità del campione.

## 5. CONCLUSIONE

L'analisi statistica dei 30 casi ha evidenziato una concordanza prognostica tra microscopia ottica e Digital Pathology nel 40% dei casi. Nel 33,3% dei casi la Digital Pathology ha determinato una classificazione più severa, mentre nel 26,7% ha portato a una valutazione meno severa.

Una delle principali implicazioni future della Digital Pathology riguarda la possibilità di rendere la diagnosi istopatologica più standardizzata, riproducibile e quantitativa. La microscopia ottica rimane il metodo di riferimento, ma alcune valutazioni, come la misurazione dello spessore massimo di infiltrazione, dell'area tumorale o dell'estensione radiale, possono essere influenzate dall'esperienza dell'operatore e dal metodo di misurazione utilizzato. La Digital Pathology, grazie alla possibilità di analizzare l'intero vetrino digitalizzato e di effettuare misurazioni più precise, può ridurre questa variabilità e favorire una maggiore uniformità tra diversi osservatori.

Dal punto di vista diagnostico, la Digital Pathology può migliorare l'identificazione di aree focali difficili da riconoscere alla microscopia tradizionale, come piccoli nidi tumorali infiltranti, pattern di crescita irregolari, aree di maggiore atipia nucleare o componenti infiammatorie peritumorali più evidenti. Questo può essere particolarmente utile nei casi eterogenei, nei tumori di piccole dimensioni o nei campioni in cui la distinzione tra crescita espansiva e infiltrativa non è immediata.

Sul piano prognostico, il contributo più rilevante della Digital Pathology è rappresentato dalla possibilità di integrare i parametri morfologici tradizionali con dati quantitativi più accurati. Spessore massimo di infiltrazione, area tumorale e volume stimato possono fornire una descrizione più completa del carico tumorale.

Un aspetto particolarmente interessante emerso dallo studio è che la Digital Pathology non determina sempre una classificazione più severa. In alcuni casi ha portato a una rivalutazione del rischio verso categorie superiori, grazie all'identificazione di maggiore spessore, area tumorale più ampia o pattern infiltrativi.

Le implicazioni future sono ancora più rilevanti se si considera la possibile integrazione della Digital Pathology con strumenti di intelligenza artificiale e sistemi di analisi automatizzata delle immagini. In futuro, algoritmi dedicati potrebbero supportare il patologo

nell'identificazione automatica dei fattori prognostici. Questo potrebbe rendere la valutazione del carcinoma squamocellulare cutaneo ancora più oggettiva e riproducibile.

Dal punto di vista clinico, una valutazione digitale più accurata potrebbe migliorare la gestione del paziente. Una migliore definizione del rischio prognostico può infatti orientare le decisioni terapeutiche, la necessità di ampliamento chirurgico, la frequenza dei controlli e l'eventuale invio a percorsi multidisciplinari nei casi più aggressivi. Nei tumori localizzati in sedi critiche, come volto, tempie, palpebra, cuoio capelluto o regione preauricolare, una stima più precisa della profondità e dell'estensione tumorale può avere un impatto particolarmente importante.

In conclusione, la Digital Pathology si rivela essere una metodica complementare alla microscopia ottica nella valutazione del carcinoma squamocellulare cutaneo, consentendo una migliore standardizzazione delle misurazioni, associata ad un'accurata documentazione dell'estensione tumorale e ad una valutazione più dettagliata di parametri morfologici rilevanti per la prognosi. In prospettiva, l'associazione tra Digital Pathology, strumenti di analisi morfometrica e algoritmi di intelligenza artificiale potrà ulteriormente migliorare l'accuratezza diagnostica, la riproducibilità e la capacità prognostica nella pratica dermatopatologica.



## 6. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. A.I.M.A.M.E. Il Carcinoma Cutaneo a Cellule Squamose. (2020).
2. AIOM. Linea guid Tumori Cutanei Non Melanoma- Carcinoma squamocellulare cutaneo. (2024).
3. Alam M., Armstrong A., Baum C., Bordeaux J.S., Brown M., Busam K.J., Eisen D.B., Iyengar V., Lober C., Margolis D.J., Messina J., Miller A., Miller S., Mostow E., Mowad C., Nehal K., Schmitt-Burr K., Sekulic A., Storrs P., Teng J., Yu S., Huang C., Boyer K., Begolka W.S., Bichakjian C. (2018). Guidelines of care for the management of cutaneous squamous cell carcinoma. *American Academy of Dermatology*, 2018;78:560-78.
4. Amin M.B. (2017). AJCC Cancer Staging Manual. *Springer*. Eighth Edition.
5. Bertino G., Sersa G., De Terlizzi F., Occhini A., Plaschke C.C., Groselj A., Langdon C., Grau J.J., McCaul J.A., Heuveling D., Cemazar M., Strojani P., de Bree R., Leemans C.R., Wessel I., Gehl J., Benazzo M. (2016). European Research on Electrochemotherapy in Head and Neck Cancer (EURECA) project: Results of the treatment of skin cancer. *European Journal of Cancer*. 63. 41-52.
6. Brantsch K.D., Meisner C., Schönfisch B., Trilling B., Wehner-Caroli J., Röcken M., Breuninger H. (2008). Analysis of risk factors determining prognosis of cutaneous squamous-cell carcinoma: a prospective study. *The Lancet Oncology*. 9(8). 713-720.
7. Brougham N.D.L.S., Dennett E.R., Cameron R., Tan S.T. (2012). The incidence of metastasis from cutaneous squamous cell carcinoma and the impact of its risk factors. *Journal of Surgical Oncology*. 106(7), 811-815.
8. Brown V.L., Harwood C.A., Crook T., Cronin J.G., Kelsell D.P., Proby C.M. (2004). p16<sup>INK4a</sup> and p14<sup>ARF</sup> Tumor Suppressor Genes Are Commonly Inactivated in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Investigative Dermatology*. 122(5). 1284-1292.
9. Buruiană A., Gheban B.A., Gheban-Roșca I.A., Georgiu C., Crișan D., Crișan M. (2024). The Tumor Stroma of Squamous Cell Carcinoma: A Complex Environment That Fuels Cancer Progression. *Cancers*. 16(9), 1727.
10. Cañueto J., Martín-Vallejo J., Cardeñoso-Álvarez E., Fernández-López E., Pérez-Losada J., Román-Curto C. (2018). Rapid growth rate is associated with poor prognosis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Clinical and Experimental Dermatology*, 43(8), 876-882.
11. Cañueto J., Tejera-Vaquero A., Redondo P., Botella-Estrada R., Puig S., Sanmartín O. (2020). A review of terms used to define cutaneous squamous cell carcinoma with a poor prognosis. *Actas Dermosifiliogr.* (2020); 111(4), 281-290.
12. Carmena-Ramón R., Mateu-Puchades A., Santos-Alarcón S., Lucas-Truyols S. (2017). Queratosis actínica: nuevo concepto y actualización terapéutica. Actinic keratosis: New concept and therapeutic update. *Atención Primaria*. 49(8), 492-497.

13. Cassarino D.S., DeRienzo D.P., Barr R.J. (2006). Cutaneous squamous cell carcinoma: a comprehensive clinicopathologic classification. Part two. *Journal of Cutaneous Pathology*. 33(4). 261-279.
14. Chen A.C., Martin, A.J., Choy B., Fernández-Peñas P., Dalziel R.A., McKenzie C.A., Scolyer R.A., Dhillon H.M., Vardy, J.L., Krickler A., St. George G., Chinniah N., Halliday G.M., Damian D.L. (2015). A Phase 3 Randomized Trial of Nicotinamide for Skin-Cancer Chemoprevention. *The New England Journal of Medicine*. 373. 1618-1626.
15. Cheng J.Y., Li F., Ko C.J., Colegio O.R. (2018). Cutaneous Squamous Cell Carcinomas in Solid Organ Transplant Recipients Compared With Immunocompetent Patients. *Jama Dermatology*. 154(1), 60-66.
16. Chiles M.C., Ai L., Zuo C., Fan C.Y., Smoller B.R. (2003). E-Cadherin Promoter Hypermethylation in Preneoplastic and Neoplastic Skin Lesions. *Modern Pathology*. 16(10). 1014-1018.
17. Combalia A. and Carrera C. (2020). Squamous Cell Carcinoma: An Update on Diagnosis and Treatment. *Dermatology Practical & Conceptual*. 10(3).
18. Di Nardo L., Pellegrini C., Di Stefani A., Del Regno L., Sollena P., Piccerillo A., Longo C., Garbe C., Fargnoli M.C., Peris K. (2019). Molecular genetics of cutaneous squamous cell carcinoma: perspective for treatment strategies. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 34(5). 932-941.
19. Elder D.E., Massi D., Scolyer R.A., Willemze R. (2018). WHO Classification of Skin Tumors. 4<sup>th</sup> edition.
20. Fania L., Didona D., Di Pietro F.R., Verkhovskaia S., Morese R., Paolino G., Donati M., Ricci F., Coco V., Ricci F., Candi E., Abeni D., Dellambra E. (2021). Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Approaches. *Biomedicines*, 9, 171.
21. Gehl J., Sersa, G., Matthiessen L.W., Muir T., Soden D., Occhini A., Quagliano P., Curatolo P., Campana L.G., Kunte C., Clover A.J.P., Bertino G., Farricha V., Odili J., Dahlstrom K., Benazzo M., Mir L.M. (2018). Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumors and skin metastases. *Acta Oncologica*. 57(7). 874-882.
22. Green A.C. and Olsen C.M. (2017). Cutaneous squamous cell carcinoma: an epidemiological review. *British Journal of Dermatology*. 177(2), 373-381.
23. Halim A.S., Ramasenderan N. (2022). High-risk cutaneous squamous cell carcinoma (CSCC): Challenges and emerging therapies. *Asian Journal of Surgery*, 46, (2023), 47-51.
24. Inman G.J., Wang J., Nagano A., Alexandrov L.B., Purdie K.J., Taylor R.G., Sherwood V., Thomson J., Hogan S., Spender L.C., South A.P., Stratton M., Chelala C., Harwood C.A., Proby C.M., Leigh I.M. (2018). The genomic landscape of cutaneous SCC reveals drivers and a novel azathioprine associated mutational signature. *Nature Communications*. 3667(9).

25. Jahn S.W., Plass M., Moinfar F. (2020). Digital Pathology: Advantages, Limitations and Emerging Perspectives. *Journal of Clinical Medicine*. 9(11), 3697.
26. Jambusaria-Pahlajani A., Karia P.S., Schmults C.D. (2020). Risk Factors Party Together: The Role of Perineural Invasion and Desmoplasia in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Prognosis. *Journal of Investigative Dermatology*. 140(10), 1893-1894.
27. Jennings L. and Schmults C.D. (2010). Management of High-Risk Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*. 3(4), 39-48.
28. Jowkar F., Aslani F.S., Pourian B., Nozari F. (2022). Evaluation of peritumoral inflammatory infiltration and its relationship with different prognostic factors in cutaneous squamous cell carcinoma. *Journal of Cutaneous Pathology*. 50(1), 66-71.
29. Kennedy C., Willemze R., de Gruijl F.R., Bouwes Bavinck J.N., Bajdik C.D. (2003). The Influence of Painful Sunburns and Lifetime Sun Exposure on the Risk of Actinic Keratoses, Seborrheic Warts, Melanocytic Nevi, Atypical Nevi, and Skin Cancer. *Journal of Investigative Dermatology*. 120(6), 1087-1093.
30. Khoury J.D., Wang W.L., Prieto V.G., Medeiros L.J., Kalhor N., Hameed M., Broaddus R., Hamilton S.R. (2018). Validation of Immunohistochemical Assays for Integral Biomarkers in the NCI-MATCH EAY131 Clinical Trial. *Clinical Cancer Research*. 24(3). 521-531.
31. Kus K.J.B., Murad F., Smile T.D., Chang M., Ashrafzadeh S., Zhou G., Ilori E.O., Koyfman S.A., Vidimos A.T., Schmults C.D., Ruiz E.S. (2022). Higher metastasis and death rates in cutaneous squamous cell carcinomas with lymphovascular invasion. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 86(4), 766-773.
32. Kwiek B. and Schwartz R.A. (2016). Keratoacanthoma (KA): An update and review. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 74(6). 1220-1233.
33. Lansbury L., Bath-Hextall F., Perkins W., Stanton W., Leonardi-Bee J. (2013). Interventions for non-metastatic squamous cell carcinoma of the skin: systematic review and pooled analysis of observational studies. *BMJ Journal*. 347.
34. Lefort K., Mandinova A., Ostano P., Kolev V., Calpini V., Kolfschoten I., Devgan V., Lieb J., Raffoul W., Hohl D., Neel V., Garlick J., Chiorino G., Dotto G.P. (2007). Notch1 is a p53 target gene involved in human keratinocyte tumor suppression through negative regulation of ROCK1/2 and MRCK $\alpha$  kinases. *Genes & Development*. 21: 562-577.
35. Likhacheva A. Awan M., Barker C.A., Bhatnagar A., Bradfield L., Brady M.S., Buzurovic I., Geiger J.L., Parvathaneni U., Zaky S., Devlin P.M. (2020). Definitive and Postoperative Radiation Therapy for Basal and Squamous Cell Cancers of the Skin: Executive Summary of an American Society for Radiation Oncology Clinical Practice Guideline. *Practical Radiation Oncology*. 10(1). 8-20.
36. Lubov J., Labbé M., Sioufi K., Morand G.B., Hier M.P., Khanna M., Sultanem K., Mlynarek A.M. (2021). Prognostic factors of head and neck cutaneous squamous cell carcinoma: A systematic review. *Journal of Otolaryngology – Head & Neck Surgery*. 50(1).

37. Madabhushi A. and Lee G. (2016). Image analysis and machine learning in digital pathology: Challenges and opportunities. *Medical Image Analysis*. 33, 170-175.
38. Morton D.L., Davtyan D.G., Wanek L.A., Foshag L.J., Cochran A.J. (1993). Multivariate analysis of the relationship survival and the microstage of primary melanoma by clark level and breslow thickness. *Cancer*. 71(11). 3737-3743.
39. Motaparthy K., Kapil J.P., Velazquez E.F. (2017). Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: Review of the Eighth Edition of the American Joint Committee on Cancer Staging Guidelines, Prognostic Factors, and Histopathologic Variants. *Advances In Anatomic Pathology*. 24(4), 171-194.
40. Niazi M.K.K., Parwani A.V., Gurcan M.N. (2019). Digital Pathology and artificial intelligence. *The Lancet Oncology*. 20(5), 253-261.
41. Nicholson R.I., Gee J.M.W., Harper M.E. (2001). EGFR and cancer prognosis. *European Journal of Cancer*. 37(4). 9-15.
42. Peleva E., Chen Y., Finke B., Rizvi H., Healy E., Lai C., Craig P., Rickaby W., Schoenherr C., Nourse C., Proby C., Inman G.J., Leigh I.M., Harwood C.A., Wang J. (2025). Enhanced metastasis risk prediction in cutaneous squamous cell carcinoma using deep learning and computational histopathology. *Precision Oncology*. 308(9).
43. Pell R., Oien K., Robinson M., Pitman H., Rajpoot N., Rittscher J., Snead D., Verrill C. (2019). The use of digital pathology and image analysis in clinical trials. *The Journal of Pathology: Clinical Research*. 5(2), 81-90.
44. Que S.K.T., Zwald F.O., Schmults C.D. (2018). Cutaneous squamous cell carcinoma: Incidence, risk factors, diagnosis, and staging. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 78(2), 237-247.
45. Robinson J.K., Wayne J.D., Martini M.C., Hultgren B.A., Mallett K.A., Turrisi R. (2016). Early Detection of New Melanomas by Patients With Melanoma and Their Partners Using a Structured Skin Self-examination Skills Training Intervention. *Jama Dermatology*. 152(9). 979-985.
46. Roozeboom M.H., Aardoom M.A., Nelemans P.J., Thissen M.R.T.M., Kelleners-Smeets N.W.J., Kuijpers D.I.M., Mosterd K. (2013). Fractionated 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy after partial debulking versus surgical excision for nodular basal cell carcinoma: A randomized controlled trial with at least 5-year follow-up. *Journal of American Academy of Dermatology*. 69(2). 280-287.
47. Ruiz E.S., Karia P.S., Besaw R., Schmults C.D. (2019). Performance of the American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 8<sup>th</sup> Edition vs. the Brigham and Women's Hospital Tumor Classification System for Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Jama Dermatology*, 2019, 155(7), 819-825.
48. Saraiya M., Glanz K., Briss P.A., Nichols P., White C., Das D., Smith S.J., Tannor B., Hutchinson A.B., Wilson K.M., Gandhi N., Lee N.C., Rimer B., Coates R.C., Kerner J.F.,

- Hiatt R.A., Buffler P., Rochester P. (2004). Interventions to prevent skin cancer by reducing exposure to ultraviolet radiation: A systematic review. *American Journal of Preventive Medicine*. 27(5). 422-466.
49. Sasaki K., Morioka D., Conci S., Margonis G.A., Sawada Y., Ruzzenente A., Kumamoto T., Iacono C., Andreatos N., Guglielmi A., Endo I., Pawlik T. (2018). The tumor Burden Score: A New “Metro-ticket” Prognostic Tool For Colorectal Liver Metastases Based on Tumor Size and Number of Tumors. *Annals of Surgery*. 267(1). 132-141.
  50. Savoia Paola (2008). Ulcerazione e regressione: ruolo prognostico. Atti XXIII Congresso Nazionale, SIDCO. 1-35.
  51. Sen G.L., Boxer L.D., Webster D.E., Bussat R.T., Qu K., Zarnegar B.J., Johnston D., Siprashvili Z., Khavari P.A. (2012). ZNF750 Is a p63 Target Gene that Induces KLF4 to Drive Terminal Epidermal Differentiation. *Cell Press Journal*. 22(3), 669-677.
  52. Sito bbTraccia: <https://www.bbtraccia.it>
  53. Sito NDP.scan: [https://www.hamamatsu.com/content/dam/hamamatsu-photonics/sites/documents/99\\_SALES\\_LIBRARY/sys/SBIS0064E\\_NDPSCAN.pdf](https://www.hamamatsu.com/content/dam/hamamatsu-photonics/sites/documents/99_SALES_LIBRARY/sys/SBIS0064E_NDPSCAN.pdf)
  54. Sito NDP.view 2: <https://www.hamamatsu.com/jp/en/product/life-science-and-medical-systems/digital-slide-scanner/U12388-01.html>
  55. Sito Winsap 3.0.: [https://www.eng.it/resources/platform/winsap/Winsap\\_3.0.pdf](https://www.eng.it/resources/platform/winsap/Winsap_3.0.pdf)
  56. Stratigos A.J., Garbe C., Dessinioti C., Lebbe C., Bataille V., Bastholt L., Dreno B., Fargnoli M.C., Forsea A.M., Frenard C., Harwood C.A., Hauschild A., Hoeller C., Kandolf-Sekulovic L., Kaufmann R., Kelleners-Smeets N.W.J., Malvey J., del Marmol V., Middleton M.R., Moreno-Ramirez D., Pelleciani G., Peris K., Saiag P., van den Beuken-van Everdingen M.H.J., Vieira R., Zalaudek I., Eggermont A.M.M., Grob J.J. (2020). European interdisciplinary guideline on invasive squamous cell carcinoma of the skin: Part 2. Treatment. *European Journal of Cancer*. 128, 83-102.
  57. Stratigos A.J., Garbe C., Dessinioti C., Lebbe C., van Akkooi A., Bataille V., Bastholt L., Dreno B., Dummer R., Fargnoli M.C., Forsea A.M., Harwood C.A., Hauschild A., Hoeller C., Kandolf-Sekulovic L., Kaufmann R., Kelleners-Smeets N.W.J., Lallas A., Leiter U., Malvey J., del Marmol V., Moreno-Ramirez D., Pelleciani G., Peris K., Saiag F., Tagliaferri L., Trakatelli M., Ioannides D., Vieira R., Zalaudek I., Arenberger P., Eggermont A.M.M., Röcken M., Grob J.J., Lorigan P. (2023). European consensus-based interdisciplinary guideline for invasive cutaneous squamous cell carcinoma: Part 2. Treatment-Update 2023. *European Journal of Cancer*. 193, 113-252.
  58. Su F. et al. (2012). RAS Mutations in Cutaneous Squamous-Cell Carcinomas in Patients Treated with BRAF Inhibitors. *The New England Journal of Medicine*. 366(3). 207-215.
  59. Sukswai N. and Khoury J.D. (2019). Immunohistochemistry Innovations for Diagnosis and Tissue-Based Biomarker Detection. *Molecular Testing and Diagnostics*. 14. 368-375.



60. Tampa M., Mitran C.I., Mitran M.I., Nicolae I., Dumitru A., Matei C., Manolescu L., Popa G.L., Caruntu C., Georgescu S.R. (2020). The Role of Beta HPV Types and HPV-Associated Inflammatory Processes in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Immunology Research*. Vol.2020(1).
61. Thompson A.K., Kelley B.F., Prokop L.J., Murad M.H., Baum C.L. (2016). Risk Factors for Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Recurrence, Metastasis, and Disease-Specific Death. A Systematic Review and Meta-analysis. *Jama Dermatology*. 152(4). 419-428.
62. Veness M.J., Morgan G.J., Palme C.E., Gebiski V. (2009). Surgery and Adjuvant Radiotherapy in Patients with Cutaneous Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Metastatic to Lymph Nodes: Combined Treatment Should be Considered Best Practice. *The Laryngoscope*. 115(5). 870-875.
63. Verdaguer-Faja J., Ferrándiz-Pulido C., Podlipnik S., Guerra-Amor Á., Abril-Pérez C., Estrada R.B., Masferrer E., Lopez-Castillo D., Deza G., Leal L., Marti-Marti I., Ruiz-Salas V., Yébenes M., Martin L.M., Baliu C., Castany A., Boada A., Toll A., Jaka A. (2025). Risk factors for close or involved margins in cutaneous squamous cell carcinoma of the scalp. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 1-5.
64. Viarisis D., Mueller-Decker K., Klotz U., Aengeneyndt B., Kopp-Schneider A., Gröne H.J., Gheit T., Flechtenmacher C., Gissman L., Tommasino M. (2011). E6 and E7 from Beta Hpv38 Cooperate with Ultraviolet Light in the Development of Actinic Keratosis-Like Lesions and Squamous Cell Carcinoma in Mice. *PLOS Pathogens*. 12(10).
65. Weinstein R.S., Graham A.R., Richter L.C., Barker G.P., Krupinski R.A., Lopez A.M., Erps K.A., Bhattacharyya A.K., Yaki Y., Gilbertson J.R. (2009). Overview of telepathology, virtual microscopy, and whole slide imaging: prospects for the future. *Human Pathology*. 40(8), 1057-1069.
66. Weinstock M.A., Bingham S.F., DiGiovanna J.J., Rizzo A.E., Marcolivio K., Hall R., Eilers D., Naylor M., Kirsner R., Kalivas J., Cole G., Vertrees J.E. (2012). Tretinoin and the Prevention of Keratinocyte Carcinoma (Basal and Squamous Cell Carcinoma of the Skin): A Veterans Affairs Randomized Chemoprevention Trial. *Journal of Investigate Dermatology*. 132(6). 1583-1590.
67. Wheless L., Black J., Alberg A.J. (2010). Nonmelanoma Skin Cancer and the Risk of Second Primary Cancers: A Systematic Review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 19(7). 1686-1695.
68. Zhang D.Y., Venkat A., Khasawneh H., Sali R., Zhang V., Pei Z. (2024). Implementation of Digital Pathology and Artificial Intelligence in Routine Pathology Practice. *Laboratory Investigation*. 104. 102-111.
69. Zhang X., Shen C., Zhang H., Kang Y., Hsieh C.Y., Hou T. (2024). Advancing Ligand Docking through Deep Learning: Challenges and Prospects in Virtual Screening. *Account of Chemical Research*. 57(10), 1500-1509.

## 7. ALLEGATI

### 7.1. Tabella dei casi di cSCC

**+ Tabella dei casi di carcinoma squamoso cutaneo**

| ID Caso   | Anno di nascita | Sesso | Quesito diagnostico                              | Materiale inviato  | Descrizione macroscopica/<br>microscopica                                                                                                                                                                                                   | Diagnosi istologica | Fattori prognostici                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------|-----------------|-------|--------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 (A/54)  | 1950            | M     | Basalioma<br>avambraccio sx.                     | Biopsia<br>cutanea | -Losanga cutanea (2,6x1,7x0,3 cm)<br>-Lesione grigiasta, rilevata a margini sfumati di cm 1,2x1,1, che dista cm 0,1 dal margine laterale più vicino<br>(A1-A2: Estremi a T, A3: Lesione seriata lungo asse minore).                         | cSCC in situ        | -Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 2 (A/57)  | 1946            | F     | Carcinoma<br>spinocellulare guancia<br>sx.       | Biopsia<br>cutanea | -Losanga cutanea (1,8x0,9x0,3 cm)<br>-Lesione grigiasta, rilevata, a margini sfumati, di cm 0,7x0,6, che giunge in stretta prossimità di un margine laterale (Seriata lungo asse minore).                                                   | cSCC                | -Grado istologico: G1, ben differenziato<br>-Ulcerazione: assente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 2<br>-Dimensione radiale massima: mm 5<br>-Margini di accrescimento: espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                |
| 3 (A/288) | 1936            | F     | Carcinoma<br>spinocellulare<br>preauricolare sx. | Biopsia<br>cutanea | -Losanga cutanea (4x1,7x0,3 cm)<br>-Lesione brunastra, rilevata di cm 1,7x1,7, che giunge in stretta prossimità del margine laterale e a cm 1 dall'estremo più vicino<br>(A1: Apici, A2-A3: Restante materiale seriato ed incluso in toto). | cSCC                | -Grado istologico: G2-G3, moderatamente e focalmente scarsamente differenziato con aree di intensa attività mitotica<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 4<br>-Dimensione radiale massima: mm 11<br>-Margini di accrescimento: prevalentemente espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: presente<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata<br>-Margini d'escissione: indenni |
| 4 (A/289) | 1951            | F     | Cheratosi dorso mano<br>dx.                      | Biopsia<br>cutanea | -Losanga cutanea (1,8x1,2x0,2 cm)<br>-Lesione lievemente rilevata, ulcerata, di cm 0,5x0,5, centrale al prelievo (Seriato ed incluso in toto).                                                                                              | cSCC                | -Grado istologico: G1, ben differenziato e G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: assente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 2<br>-Dimensione radiale massima: mm 5<br>-Margini di accrescimento: espansivi                                                                                                                                                                                            |

|              |      |  |   |                                      |  |                 |                                                                                                                                                                                                                   |                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------|------|--|---|--------------------------------------|--|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5<br>(A/293) | 1936 |  | F | Carcinoma spinocellulare presternale |  | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (4x2x0,3 cm)<br>-Lesione biancastra, nodulare, di 1,8x1,8 cm, centrale al prelievo (A1: Apici, A2-A3: restante losanga serciata lungo asse minore).                                              | cSCC<br>insoorto su cheratoacantoma | -Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata<br>-Margini d'escissione: indenni<br>-Grado istologico: G2, moderatamente differenziato, G3, scarsamente differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 6<br>-Dimensione radiale massima: mm 14<br>-Margini di accrescimento: infiltrativi<br>-Angioinvasione: immagini sospette<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa/assente<br>-Margini d'escissione: indenni |
| 6<br>(A/513) | 1945 |  | F | Carcinoma basocellulare zigomo sx.   |  | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (2,2x0,9x0,3 cm)<br>-Lesione grigiastria, rilevata, a margini sfumati, di cm 1,1x0,5, che giunge in stretta prossimità di un margine laterale (Seriata lungo l'asse minore).<br>-Punch di cm 0,3 | cSCC in situ                        | -Ulcerazione: presente<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 7<br>(A/530) | 1958 |  | M | Cheratosi attinica labbro inf.       |  | Biopsia cutanea |                                                                                                                                                                                                                   | cSCC                                | -Ulcerazione: presente                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 8<br>(A/581) | 1954 |  | F | Epitelioma cuoio capelluto           |  | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (1,8x1x0,7 cm)<br>-Lesione lievemente rilevata, grigiastria, di cm 0,7x0,5, centrale al prelievo (Seriata lungo asse minore).                                                                    | cBCSC                               | -Ulcerazione: presente<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 9<br>(A/586) | 1937 |  | F | Carcinoma basocellulare zigomo dx.   |  | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (3,8x2x0,7 cm)<br>-Lesione rilevata, ulcerata, di cm 1,2x1,3, centrale al prelievo (A1: Apici, A2: Restante losanga serciata lungo l'asse minore).                                               | cSCC                                | -Grado istologico: G3, scarsamente differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 3,5<br>-Dimensione radiale massima: mm 11<br>-Margini di accrescimento: espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: non osservata<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                      |

|                |      |   |                                                             |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------------|------|---|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10<br>(A/727)  | 1940 | M | Cheratoacantoma<br>claveare dx.                             | Biopsia<br>cutanea                         | -Losanga cutanea (3x1,8x0,4 cm)<br>-Lesione grigiasta, rilevata a margini sfumati di cm 1,7x1,5, che giunge in stretta prossimità dei margini laterali (A1-A2: Estremi a T, A3: Lesione seriata lungo asse minore).                                                                       | cSCC<br>insorto su<br>cheratoacantoma | -Grado istologico: G1, ben differenziato<br>-Ulcerazione: non osservata<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 11<br>-Dimensione radiale massima: mm 5<br>-Margini di accrescimento: espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: modesta<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                               |
| 11<br>(A/732)  | 1939 | M | Carcinoma<br>spinocellulare<br>avambraccio sx.              | Biopsia<br>cutanea                         | -Losanga cutanea (2,3x1,2x0,4 cm)<br>-Lesione grigiasta, rilevata, a margini sfumati, di cm 1,2x1, che giunge in stretta prossimità di un margine laterale (Seriata lungo asse minore).                                                                                                   | cSCC in situ                          | -Ulcerazione: presente<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 12<br>(A/962)  | 1933 | F | Carcinoma<br>spinocellulare fronte                          | Biopsia<br>cutanea                         | -Losanga cutanea (2,8x1,5x0,3 cm)<br>-Lesione in parte piana, in parte rilevata, ulcerata, di cm 2,5x1,5 centrale al prelievo (A1: Apici a T, A2: Lesione seriata lungo asse minore).                                                                                                     | cSCC                                  | -Grado istologico: G1, ben differenziato, G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: assente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 3<br>-Dimensione radiale massima: mm 11<br>-Margini di accrescimento: infiltrativi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: modesta<br>-Margini d'escissione: la lesione giunge a meno di 1 mm dal margine profondo e da un margine laterale; apici interessati da cheratosi attinica |
| 13<br>(A/1230) | 1967 | F | Epitelioma regione<br>mammaria sx. e<br>cheratosi gamba sx. | Biopsie<br>escissionali<br>cutanee (A e B) | A)<br>-Losanga cutanea (2x1x0,5 cm)<br>-Neof ormazione grigiasta, in parte rilevata, a margini sfumati di 1x0,5 cm centrale al prelievo (Seriata lungo asse minore)<br>B)<br>-Losanga cutanea (1,5x1x0,3 cm)<br>-Neof ormazione grigiasta, piana, pigmentata a margini sfumati di 0,7x0,5 | A)<br>cBCC<br>ulcerato<br>B)<br>cSCC  | A)<br>-Varietà: infiltrativa<br>B)<br>-Grado istologico: G1<br>-Ulcerazione: assente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 1,5<br>-Dimensione radiale massima: mm 7<br>-Livello di Clark corrispondente: III<br>-Angioinvasione: non osservata                                                                                                                                                                                                                                                           |

|                |      |   |                                             |                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----------------|------|---|---------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 14<br>(A/1426) | 1934 | M | Carcinoma spinocellulare dorso mano dx.     | Biopsia escissionale cutanea | cm che dista 0,2 cm dal margine di resezione più vicino (B1 e B2, seriata lungo asse minore).<br>-Losanga cutanea (3x1,5x0,5 cm)<br>-Lesione grigiasta, rilevata, a margini netti, di cm 1x1, centrale al prelievo (A1: Apici a T, A2: Lesione seriata lungo asse minore).                                                                                                                       | cSCC ulcerato                                                            | -Invasione perineurale: non osservata<br>-Margini d'escissione: indenni<br><br>-Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 6<br>-Dimensione radiale massima: mm 8<br>-Livello di Clark corrispondente: IV<br>-Angioinvasione: non evidente<br>-Invasione perineurale: non evidente<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                              |
| 15<br>(A/1492) | 1933 | M | Epitelioma naso e regione preauricolare dx. | Biopsie cutanee (A e B)      | A)<br>-Losanga cutanea (2x1x0,5 cm)<br>-Lesione grigiasta, ulcerata, piana, a margini sfumati, di 1x0,7 cm, che dista cm 0,2 dal margine laterale più vicino (Seriata lungo asse minore)<br>B)<br>-Losanga cutanea (3x2,5x0,5 cm)<br>-Lesione rilevata, grigiasta, a margini sfumati, di 2x1,5 cm, che dista cm 0,2 dal margine laterale più vicino (B1-B2: Sezioni seriate, lungo asse minore). | A)<br>cBCC<br>B)<br>cSCC focalmente cheratinizzata ad aspetti basaloidei | A)<br>-Varietà: nodulare<br>-Margini d'escissione: indenni<br>B)<br>-Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 2<br>-Dimensione radiale massima: mm 5<br>-Margini di accrescimento: infiltrativi<br>-Livello di Clark corrispondente: IV<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata<br>-Margini d'escissione: indenni |
| 16<br>(A/1497) | 1945 | M | Epitelioma tempia dx.                       | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (4x3x0,7 cm)<br>-Lesione grigiasta, rilevata, a margini sfumati, di cm 2,3x1,4, centrale al prelievo (A1: Apici a T, A2: Lesione seriata lungo asse minore).                                                                                                                                                                                                                    | cSCC                                                                     | -Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: assente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 2<br>-Dimensione radiale massima: mm 5<br>-Margini di accrescimento: infiltrativi<br>-Livello di Clark corrispondente: III<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata                                                                                                       |



|                |      |   |                                                |                              |                                                                                                                                                                                                                                      |                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------|------|---|------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 17<br>(A/1605) | 1949 | M | Carcinoma spinocellulare su scollato           | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (3,2x1,8x0,7 cm)<br>-Lesione grigiastria, piana, ulcerata, a margini sfumati, di cm 1,5x1, centrale al prelievo (A1-A2: Apici a T, A3: Lesione seriata lungo asse minore).                                          | cSCC                | -Margini d'escissione: indenni<br>-Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 1<br>-Dimensione radiale massima: mm 5<br>-Margini di accrescimento: espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: intensa<br>-Margini d'escissione: indenni |
| 18<br>(A/1606) | 1953 | M | Cheratosi attinica cuoio capelluto, di grado 3 | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (1,5x0,7x0,3 cm)<br>-Lesione grigiastria, rilevata, a margini sfumati, di cm 0,7x0,5, che giunge a ridosso di un margine laterale (Seriata lungo l'asse minore).                                                    | cSCC in situ        | -Margini di resezione: la lesione giunge focalmente a contatto di un margine laterale, indenni i restanti                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 19<br>(A/2086) | 1945 | M | Epitelioma naso                                | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (1,5x1,2x0,5 cm)<br>-Lesione grigiastria, rilevata, a margini sfumati, di cm 1x1, che giunge in stretta prossimità di un margine laterale (Seriata lungo asse minore).                                              | cSCC                | -Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 2<br>-Dimensione radiale massima: mm 9<br>-Margini di accrescimento: espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata.<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata<br>-Margini d'escissione: indenni                                 |
| 20<br>(A/2090) | 1940 | M | Epitelioma cuoio capelluto                     | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (2,7x1,4x0,5 cm)<br>-Lesione grigiastria, ulcerata, rilevata, a margini sfumati di cm 1,3x1, che dista cm 0,1 dal margine laterale più vicino (A1-A2: Apici a T, A3: restante losanga seriata lungo l'asse minore). | cSCC in situ        | -Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 21<br>(A/2208) | 1945 | M | Carcinoma spinocellulare temporale sx.         | Biopsia escissionale cutanea | -Losanga cutanea (5,5x2,5x0,5 cm)<br>-Lesione grigiastria, ulcerata, rilevata, di 1,7x1,7 cm, centrale al prelievo (A1-A2: Apici, A3-A4: Lesione seriata lungo asse minore).                                                         | cSCC cheratinizzata | -Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: non evidente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 3                                                                                                                                                                                                                                                                         |

|                |      |   |  |                                          |                              |                                                                                                                                                                                                                         |                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------|------|---|--|------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 22<br>(A/2261) | 1931 | F |  | Epitelioma dorso mano dx.                | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (3x1,5x0,1 cm)<br>-Lesione biancastra, rilevata, di 1x0,9 cm centrale al prelievo<br>(A1: Apici, A2: Lesione seriata lungo asse minore)<br>-Indagine immunohistochimica: P40.                          | cSCC                | -Dimensione radiale massima: mm 17<br>-Livello di Clark corrispondente: IV<br>-Angioinvasione: non evidente<br>-Invasione perineurale: non evidente<br>-Margini d'escissione: indenni<br>-Grado di stadiazione: pT1<br><br>-Grado istologico: G2, moderatamente differenziato e G3, scarsamente differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 23<br>-Dimensione radiale massima: mm 65<br>-Margini di accrescimento: infiltrativi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: intensa<br>-Margini d'escissione: indenni. |
| 23<br>(A/2463) | 1944 | M |  | Carcinoma spinocellulare cuoio capelluto | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (3,2x1,7x0,5 cm)<br>-Lesione grigiastra, rilevata, a margini sfumati, di cm 1,4x1,3, che giunge in stretta prossimità di un margine laterale<br>(A1-A2: Apici, A3: Lesione seriata lungo asse minore). | cSCC                | -Grado istologico: G1, ben differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 2<br>-Dimensione radiale massima: mm 9<br>-Margini di accrescimento: espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 24<br>(A/2515) | 1937 | M |  | Epitelioma scapolare sx.                 | Biopsia escissionale cutanea | -Losanga cutanea (4x2x0,5 cm)<br>-Lesione grigiastra, ulcerata, rilevata, a margini sfumati, di cm 1,5x1,5 centrale al prelievo<br>(A1: Apici a T, A2-A3: Lesione seriata lungo asse minore).                           | cSCC cheratinizzata | -Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 0,8<br>-Dimensione radiale massima: mm 12<br>-Livello di Clark corrispondente: IV<br>-Angioinvasione: non evidente<br>-Invasione perineurale: non evidente<br>-Margini d'escissione: indenni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 25<br>(A/2792) | 1940 | F |  | Epitelioma tempia sx.                    | Biopsia cutanea              | -Losanga cutanea (2,7x1,4x0,5 cm)                                                                                                                                                                                       | cSCC                | -Grado istologico: G1, ben differenziato<br>-Ulcerazione: presente                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

|                |      |   |                                          |                 |                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                   |      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------|------|---|------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                |      |   |                                          |                 |                                                                                                                                                                                                                             | -Lesione grigiastria, rilevata, a margini sfumati, di cm 1,2x1, centrale al prelievo (A1-A2: Estremi a T, A3: Lesione seriata lungo asse minore). |      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  | -Spessore massimo di infiltrazione: mm 2<br>-Dimensione radiale massima: mm 7<br>-Margini di accrescimento: espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: scarsa<br>-Margini d'escissione: indenni<br>-Margini d'escissione: indenni |
| 26<br>(A/2793) | 1934 | F | Epitelioma tempia dx.                    | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (2x1,1x0,2 cm)<br>-Lesione grigiastria, rilevata, a margini sfumati, di cm 0,7x0,6, centrale al prelievo (Seriata lungo asse minore).<br>-Punch di cm 0,4                                                  | cSCC in situ insorto su cheratosi attinica                                                                                                        | cSCC |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 27<br>(A/3050) | 1937 | M | Carcinoma spinocellulare cuoio capelluto | Biopsia cutanea |                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                   |      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 28<br>(A/3126) | 1943 | M | Epitelioma cuoio capelluto               | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (3x1,5x0,3 cm)<br>-Lesione rilevata, biancastra e brunastra pigmentata di 1,4x1,3 cm centrale al prelievo<br>(A1: Apici, A2-A3: Lesione seriata lungo asse minore).                                        | cSCC in situ della cute focalmente infiltrante                                                                                                    |      | -Grado istologico: G2, moderatamente differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm 1<br>-Dimensione radiale massima: mm 1<br>-Margini di accrescimento: infiltrativi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: non osservata<br>-Reazione linfocitaria peritumorale: moderata<br>-Margini d'escissione: indenni |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 29<br>(A/3519) | 1939 | F | Carcinoma palpebra inf. Dx.              | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (2,2x1,6x0,5 cm)<br>-Lesione grigiastria, rilevata, a margini sfumati di 1,2x0,9 cm, a 0,1 cm dal margine laterale più vicino<br>(Campione incluso lungo asse minore).                                     | cBCSC                                                                                                                                             |      | -Ulcerazione: presente<br>-Margini di escissione: meno di 1 mm dal margine profondo (i restanti indenni).                                                                                                                                                                                                                                                              |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 30<br>(A/3523) | 1938 | M | Cheratosi attinica chiaveare sx          | Biopsia cutanea | -Losanga cutanea (2,4x1,4x0,3 cm)<br>-Lesione grigiastria, rilevata, a margini sfumati di 1,2x1 cm, che giunge in stretta prossimità di un margine laterale<br>(A1-A2: Estremi a T, A3: Lesione seriata lungo asse minore). | cSCC in situ                                                                                                                                      |      | -Margini di restrizione: indenni<br>-Presenza a ridosso di un estremo di piccolo nido nevico intradermico                                                                                                                                                                                                                                                              |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

|                |      |   |                                     |                    |                                                                                                                                                        |      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------|------|---|-------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 31<br>(A/3524) | 1948 | M | Nodo maligno tempia<br>sx. (2 mesi) | Biopsia<br>cutanea | -Losanga cutanea (4x2,5x0,7 cm)<br>-Lesione biancastra, nodulare, di cm<br>2,7x2,5x2,2 cm<br>(A1: Apici, A2-A5: Lesione seriata lungo<br>asse minore). | cSCC | -Grado istologico: G2, moderatamente<br>differenziato e G3, scarsamente<br>differenziato<br>-Ulcerazione: presente<br>-Spessore massimo di infiltrazione: mm<br>10<br>-Dimensione radiale massima: mm 20<br>-Margini di accrescimento:<br>prevalentemente espansivi<br>-Angioinvasione: non osservata<br>-Invasione perineurale: presente<br>-Margini d'escissione: indenni |
|----------------|------|---|-------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

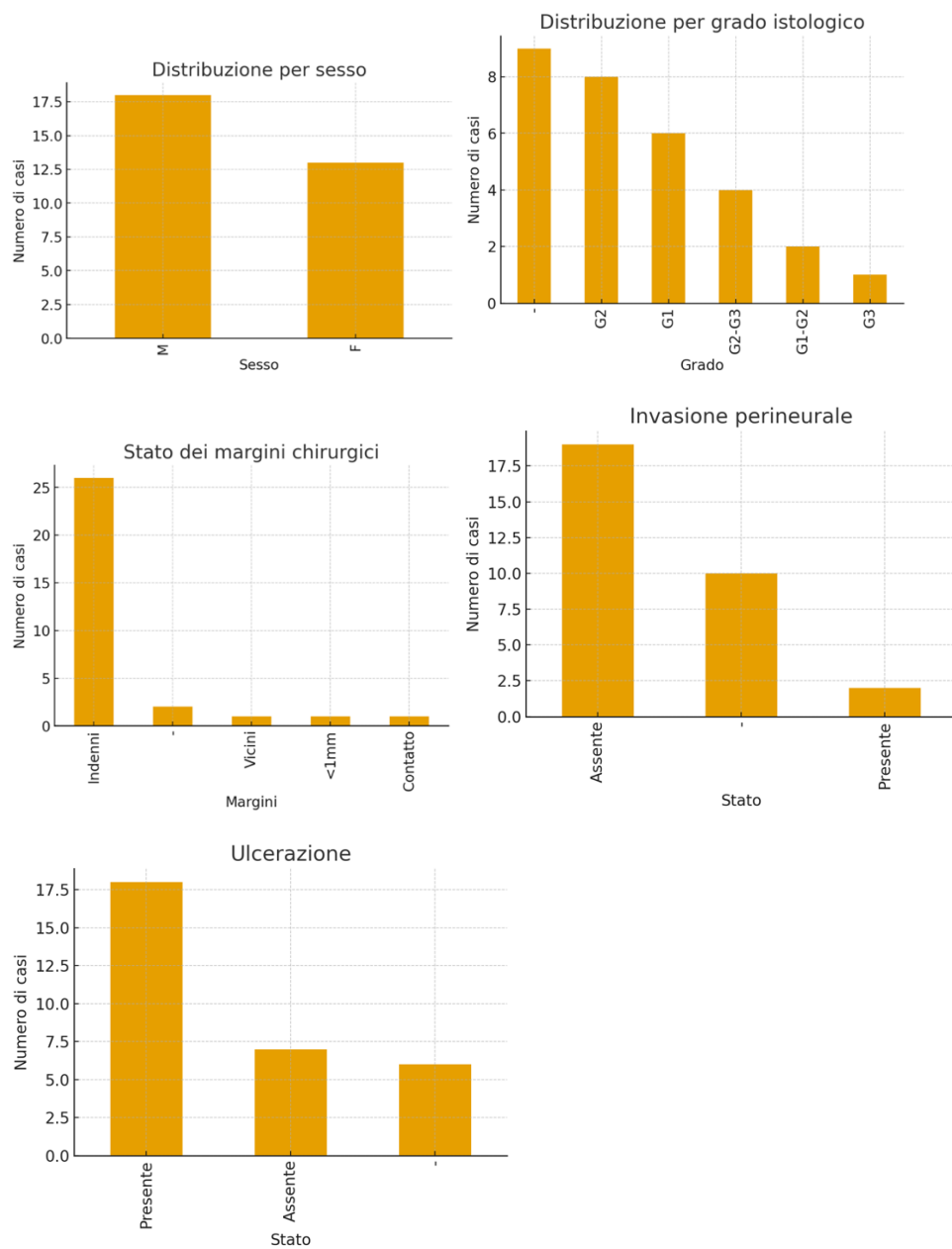
## 7.2. Tabella riassuntiva dei principali fattori prognostici del cSCC

**Tabella riassuntiva dei principali fattori prognostici del cSCC**

| Fattore prognostico                   | Definizione                                                                     | Impatto clinico                                                                                                   |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Spessore e profondità di invasione    | Misura dello spessore e invasione del tumore nei tessuti sottostanti            | Maggiore spessore e profondità sono associati a un aumento del rischio di metastasi e recidiva                    |
| Grado istologico                      | Livello di differenziazione cellulare (G1-G3)                                   | Un grado più basso di differenziazione è associato a rischio di recidiva e metastasi maggiore e prognosi peggiore |
| Coinvolgimento dei margini chirurgici | Cellule tumorali presenti o vicine ai margini di escissione                     | Margini positivi o vicini: rischio aumentato di recidiva; margini indenni: prognosi migliore                      |
| Invasione perineurale                 | Cellule tumorali attorno o all'interno delle guaine nervose                     | L'invasione è associata a una prognosi sfavorevole con aumento di recidive e metastasi                            |
| Ulcerazione                           | Perdita della superficie epiteliale con esposizione del derma                   | La presenza di ulcerazione è associata a rischio di recidiva e prognosi peggiore                                  |
| Reazione linfocitaria peritumorale    | Infiltrato linfocitario attorno al tumore (assente, modesta, moderata, intensa) | Reazione intensa: prognosi favorevole;<br>Reazione assente: sorveglianza immunitaria ridotta;                     |
| Dimensione radiale massima            | Diametro maggiore del tumore in senso orizzontale (radiale)                     | Un diametro maggiore è associato a rischio di recidive e metastasi                                                |
| Margini di accrescimento              | Pattern di crescita del tumore ai bordi (infiltrativo o espansivo)              | Margini infiltrativi: prognosi peggiore                                                                           |
| Invasione linfovaskolare              | Presenza di cellule tumorali nei vasi linfatici o sanguigni                     | L'invasione è associata a maggiore probabilità di metastasi linfonodale o a distanza                              |
| Modello di crescita                   | Disposizione strutturale delle cellule tumorali nel tessuto                     | Alcuni modelli come a trabecole o nodulare, sono associati a prognosi sfavorevole                                 |
| Desmoplasia                           | Reazione fibrotica dei tessuti circostanti al tumore                            | Spesso indicativa di invasività e rende la resezione chirurgica più complessa                                     |



### 7.3. Istogrammi di distribuzione



Allegati 7.3: a) Distribuzione per sesso, b) Distribuzione per grado istologico, c) Stato dei margini chirurgici, d) Invasione perineurale, e) Ulcerazione.

## 7.4. Schede di riferimento dei casi: Microscopia ottica e Digital Pathology

| ID   | Grado istologico.mo | Grado istologico.dp | Atipia nucleare.mo | Atipia nucleare.dp | Ulcerazione.mo | Ulcerazione.dp         | Livello di Clark | Margini di accrescimento.mo | Margini di accrescimento.dp | Invasione perineurale.mo | Invasione perineurale.dp | Angioinvasione.mo | Angioinvasione.dp |
|------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|----------------|------------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|
| 54   | G1/G2               | G1/G2               | Lieve/Moderata     | Moderata           | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 57   | G1                  | G1/G2               | Lieve/Moderata     | Lieve/Moderata     | Assente        | Assente                |                  | Espansivi                   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 288  | G2/G3               | G2/G3               | Marcata            | Marcata            | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Infiltrativi                | Dubbia                   | Presente                 | Assente           | Assente           |
| 289  | G1/G2               | G2                  | Moderata           | Marcata            | Assente        | Assente                |                  | Espansivi                   | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 293  | G2/G3               | G2/G3               | Marcata            | Marcata            | Presente       | Presente               |                  | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Dubbia            | Assente           |
| 513  | G2                  | G2                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 530  | G2/G3               | G1/G2               | Moderata           | Moderata           | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 581  | G2                  | G2                  | Moderata           | Moderata           | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 586  | G3                  | G2                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 727  | G1                  | G1                  | Lieve              | Lieve              | Assente        | Assente                |                  | Espansivi                   | Espansivi                   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 732  | G1                  | G1                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 962  | G1/G2               | G1/G2               | Moderata           | Moderata           | Assente        | Probabilmente presente |                  | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 1230 | G1                  | G1                  | Lieve              | Lieve              | Assente        | Assente                | III              | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 1426 | G2                  | G2                  | Moderata           | Moderata           | Dubbia         | Presente               | IV               | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 1492 | G2                  | G2                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               | IV               | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 1497 | G2                  | G2                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Assente        | Presente               | III              | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 1605 | G2                  | G2                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Espansivi                   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 1606 | G1/G2               | G1/G2               | Moderata           | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 2086 | G2                  | G2                  | Moderata           | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Espansivi                   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 2090 | G1/G2               | G1/G2               | Moderata           | Moderata           | Presente       | Presente               |                  | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 2208 | G2                  | G2                  | Moderata           | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               | IV               | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 2463 | G1                  | G2                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Espansivi                   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 2515 | G2                  | G2                  | Moderata/Marcata   | Moderata/Marcata   | Assente        | Assente                | IV               | Espansivi                   | Espansivi                   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 2792 | G1                  | G1                  | Lieve/Moderata     | Lieve/Moderata     | Presente       | Assente                |                  | Espansivi                   | Espansivi                   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 2793 | G1/G2               | G1/G2               | Moderata           | Moderata           | Assente        | Assente                |                  | Prevalentemente espansivi   | Prevalentemente espansivi   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 3050 | G2                  | G2                  | Lieve/Moderata     | Lieve/Moderata     | Assente        | Assente                |                  | Espansivi                   | Espansivi                   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 3126 | G2                  | G2                  | Moderata           | Lieve/Moderata     | Presente       | Presente               |                  | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 3519 | G2                  | G2                  | Moderata           | Moderata           | Presente       | Presente               |                  | Infiltrativi                | Infiltrativi                | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 3523 | G2                  | G2                  | Moderata           | Moderata           | Assente        | Assente                |                  | Espansivi                   | Espansivi                   | Assente                  | Assente                  | Assente           | Assente           |
| 3524 | G2/G3               | G2/G3               | Moderata           | Moderata/Marcata   | Presente       | Presente               |                  | Prevalentemente espansivi   | Espansivi                   | Dubbia                   | Assente                  | Assente           | Assente           |



## 7.6. Interpretazione dei dati e risultati

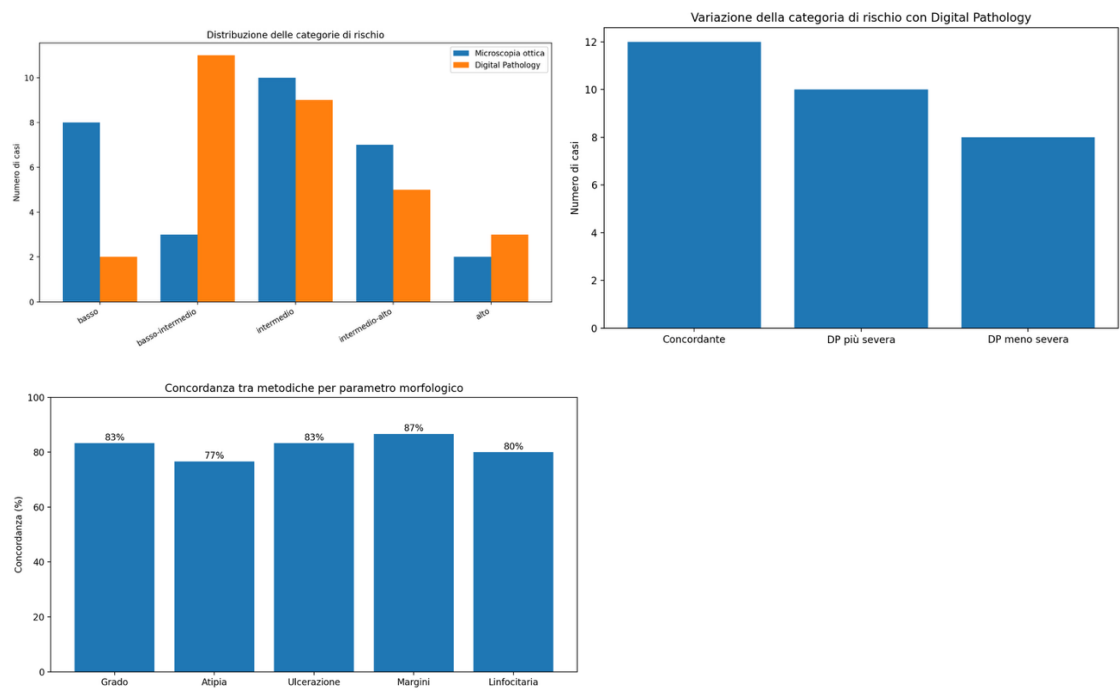
| Caso | Età | Sesso | Sede                  | Grado | MO    | Grado            | DP       | Atipia           | MO       | Atipia           | DP       | Ulcerazione | MO       | Ulcerazione | DP       | Margini                   | MO             | Margini  | DP       | Linfocitaria   | MO             | Linfocitaria | DP |
|------|-----|-------|-----------------------|-------|-------|------------------|----------|------------------|----------|------------------|----------|-------------|----------|-------------|----------|---------------------------|----------------|----------|----------|----------------|----------------|--------------|----|
| 54   | 76  | M     | Avambraccio sx        | G1-G2 | G1-G2 | lieve-moderata   | presente | moderata         | presente | moderata         | presente | presente    | presente | presente    | presente | espansivi                 | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       | intensa      |    |
| 57   | 80  | F     | Guancia sx            | G1    | G1-G2 | lieve-moderata   | assente  | lieve-moderata   | assente  | lieve-moderata   | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | espansivi                 | moderata       | assente  | assente  | moderata       | moderata       |              |    |
| 288  | 90  | F     | Preauricolare sx      | G2-G3 | G2-G3 | marcata          | presente | marcata          | presente | marcata          | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 289  | 75  | F     | Dorso mano dx         | G1-G2 | G2    | moderata         | assente  | marcata          | assente  | marcata          | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | espansivi                 | moderata       | assente  | assente  | moderata       | modesta        |              |    |
| 293  | 90  | F     | Presternale           | G2-G3 | G2-G3 | marcata          | presente | moderata         | presente | moderata         | presente | presente    | presente | presente    | presente | infiltrativi              | moderata       | presente | presente | assente/scarsa | scarsa/assente |              |    |
| 513  | 81  | F     | Zigomo sx             | G2    | G2    | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | modesta        | presente | presente | modesta        | modesta        |              |    |
| 530  | 68  | M     | Labbro inferiore      | G2-G3 | G1-G2 | moderata         | presente | moderata         | presente | moderata         | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 581  | 72  | F     | Cuio capelluto        | G2    | G2    | moderata         | presente | moderata         | presente | moderata         | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | modesta        | presente | presente | modesta        | modesta        |              |    |
| 586  | 89  | F     | Zigomo dx             | G3    | G2    | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | scarsa/assente | presente | presente | scarsa/assente | scarsa/assente |              |    |
| 727  | 86  | M     | Clavare dx            | G1    | G1    | lieve            | assente  | lieve            | assente  | lieve            | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | espansivi                 | modesta        | assente  | assente  | moderata       | moderata       |              |    |
| 732  | 87  | M     | Avambraccio sx        | G1    | G1    | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 962  | 93  | F     | Fronte                | G1-G2 | G1-G2 | moderata         | assente  | moderata         | assente  | moderata         | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | infiltrativi              | modesta        | assente  | assente  | modesta        | modesta        |              |    |
| 1230 | 59  | F     | Gamba sx              | G1    | G1    | lieve            | assente  | lieve            | assente  | lieve            | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | infiltrativi              | scarsa/assente | assente  | assente  | scarsa/assente | scarsa/assente |              |    |
| 1426 | 92  | M     | Dorso mano dx         | G2    | G2    | moderata         | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | infiltrativi              | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 1492 | 93  | M     | Preauricolare dx      | G2    | G2    | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | presente    | presente | presente    | presente | infiltrativi              | moderata       | assente  | assente  | moderata       | moderata       |              |    |
| 1497 | 81  | M     | Tempia dx             | G2    | G2    | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | presente    | presente | presente    | presente | infiltrativi              | moderata       | assente  | assente  | moderata       | moderata       |              |    |
| 1605 | 77  | M     | Scollato/collo        | G2    | G2    | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | intensa        | presente | presente | intensa        | intensa        |              |    |
| 1606 | 73  | M     | Cuio capelluto        | G1-G2 | G1-G2 | moderata         | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 2086 | 81  | M     | Naso                  | G2    | G2    | moderata         | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | espansivi                 | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 2090 | 86  | M     | Cuio capelluto        | G1-G2 | G1-G2 | moderata         | assente  | moderata         | assente  | moderata         | assente  | presente    | presente | presente    | presente | infiltrativi              | intensa        | presente | presente | intensa        | intensa        |              |    |
| 2208 | 81  | M     | Tempia sx             | G2    | G2    | moderata         | assente  | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 2463 | 82  | M     | Cuio capelluto        | G1    | G2    | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | scarsa         | presente | presente | scarsa         | scarsa         |              |    |
| 2515 | 89  | M     | Scapolare sx          | G2    | G2    | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | moderata-marcata | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | espansivi                 | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 2792 | 86  | F     | Tempia sx             | G1    | G1    | lieve-moderata   | presente | lieve-moderata   | presente | lieve-moderata   | presente | assente     | assente  | assente     | assente  | espansivi                 | scarsa         | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 2793 | 92  | F     | Tempia dx             | G1-G2 | G1-G2 | moderata         | assente  | moderata         | assente  | moderata         | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | prevalentemente espansivi | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 3050 | 89  | M     | Cuio capelluto        | G2    | G2    | lieve-moderata   | assente  | lieve-moderata   | assente  | lieve-moderata   | assente  | assente     | assente  | assente     | assente  | espansivi                 | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 3126 | 83  | M     | Cuio capelluto        | G2    | G2    | moderata         | presente | lieve-moderata   | presente | lieve-moderata   | presente | presente    | presente | presente    | presente | infiltrativi              | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |
| 3519 | 87  | F     | Palpebra inferiore dx | G2    | G2    | moderata         | assente  | moderata         | assente  | moderata         | assente  | presente    | presente | presente    | presente | infiltrativi              | scarsa         | presente | presente | scarsa         | scarsa         |              |    |
| 3523 | 88  | M     | Clavare sx            | G2    | G2    | moderata         | assente  | moderata         | assente  | moderata         | assente  | presente    | presente | presente    | presente | espansivi                 | scarsa         | presente | presente | scarsa         | scarsa         |              |    |
| 3524 | 78  | M     | Tempia sx             | G2-G3 | G2-G3 | moderata         | presente | moderata-marcata | presente | moderata-marcata | presente | presente    | presente | presente    | presente | prevalentemente espansivi | moderata       | presente | presente | moderata       | moderata       |              |    |

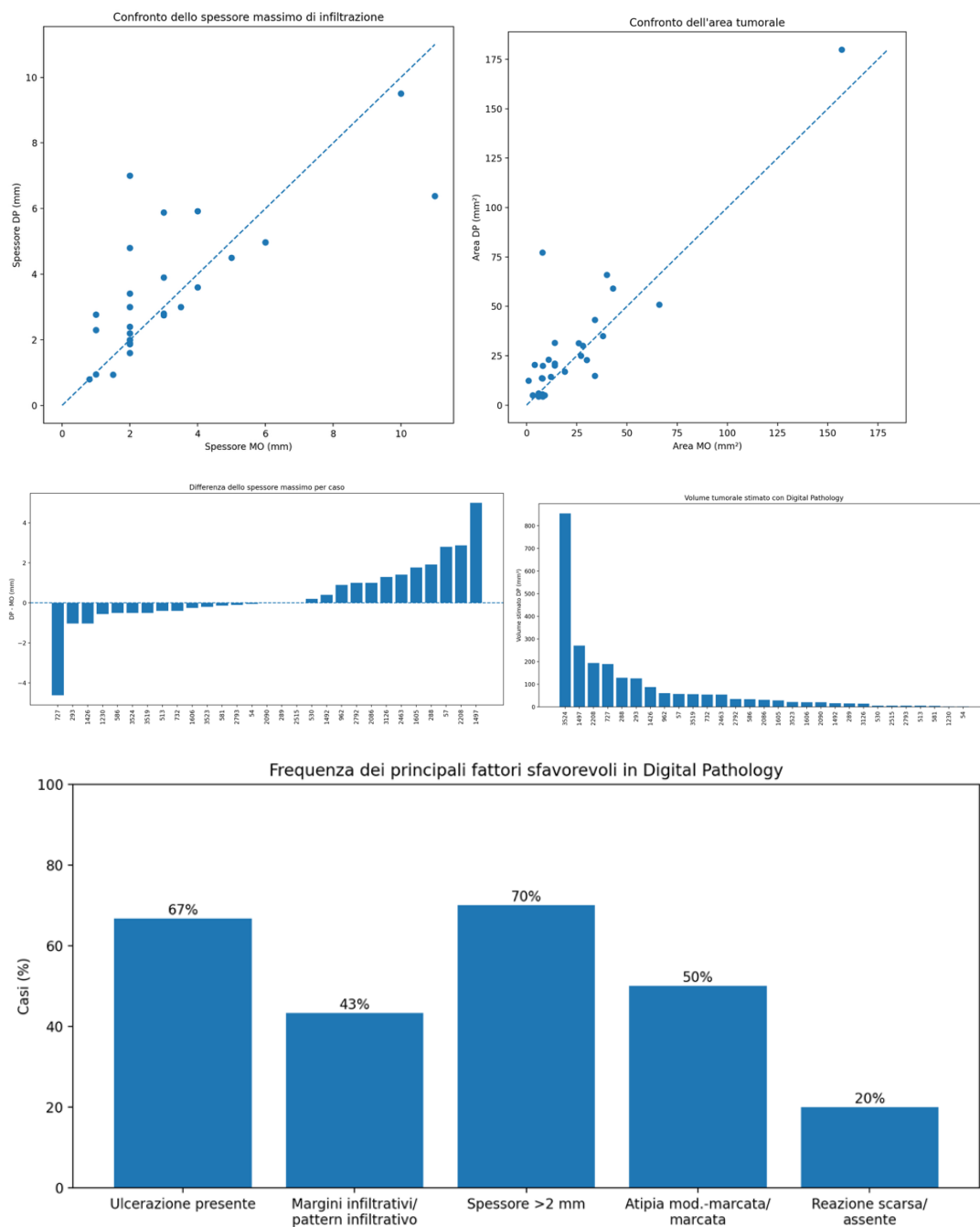
| Radiale_MO_mm | Radiale_DP_mm | Spessore_MO_mm | Spessore_DP_mm | Area_MO_mm² | Area_DP_mm² | Volume_DP_mm3 | Rischio_MO       | Rischio_DP       | Rischio_MO_num | Rischio_DP_num | Direzione_rischio | Grado_concordante |
|---------------|---------------|----------------|----------------|-------------|-------------|---------------|------------------|------------------|----------------|----------------|-------------------|-------------------|
| 11            | 11,3          | 1              | 0,95           | 9           | 5           | 2             | basso            | basso            | 1              | 1              | 1 Concordante     | VERO              |
| 5             | 4,9           | 2              | 4,8            | 8           | 19,9        | 57            | basso            | basso-intermedio | 1              | 1              | 2 DP più severa   | FALSO             |
| 11            | 13,6          | 4              | 5,92           | 34          | 43,2        | 128           | intermedio-alto  | alto             | 4              | 4              | 5 DP più severa   | VERO              |
| 5             | 7,23          | 2              | 2              | 34          | 14,8        | 14,8          | basso            | intermedio       | 1              | 1              | 3 DP più severa   | FALSO             |
| 14            | 14,1          | 6              | 4,97           | 66          | 50,8        | 126           | intermedio-alto  | intermedio       | 4              | 4              | 3 DP meno severa  | VERO              |
| 4             | 4,3           | 2              | 1,6            | 6           | 6           | 4,8           | basso-intermedio | basso-intermedio | 2              | 2              | 2 Concordante     | VERO              |
| 2             | 2,3           | 2              | 2,2            | 3           | 5           | 5,5           | intermedio-alto  | basso-intermedio | 4              | 4              | 2 DP meno severa  | FALSO             |
| 4             | 3,42          | 2              | 1,87           | 6           | 4,4         | 4             | intermedio       | intermedio       | 3              | 3              | 3 Concordante     | VERO              |
| 11            | 11,8          | 3,5            | 3              | 30          | 22,9        | 34            | intermedio-alto  | intermedio-alto  | 4              | 4              | 4 Concordante     | FALSO             |
| 5             | 11,4          | 11             | 6,38           | 43          | 59          | 189           | basso-intermedio | basso            | 2              | 2              | 1 DP meno severa  | VERO              |
| 9             | 9,4           | 4              | 3,6            | 28          | 30          | 54            | basso            | basso-intermedio | 1              | 1              | 2 DP più severa   | VERO              |
| 11            | 12,2          | 3              | 3,9            | 26          | 31,3        | 61            | intermedio       | basso-intermedio | 3              | 3              | 2 DP meno severa  | VERO              |
| 7             | 5,7           | 1,5            | 0,94           | 8           | 4,4         | 2             | intermedio       | intermedio       | 3              | 3              | 2 DP meno severa  | VERO              |
| 8             | 9,13          | 6              | 4,97           | 38          | 35          | 87            | intermedio-alto  | intermedio       | 4              | 4              | 3 DP meno severa  | VERO              |
| 5             | 7             | 2              | 2,4            | 7,85        | 13,5        | 16,2          | intermedio-alto  | intermedio-alto  | 4              | 4              | 4 Concordante     | VERO              |
| 5             | 15,6          | 2              | 7              | 7,85        | 77,3        | 270,5         | intermedio-alto  | intermedio-alto  | 4              | 4              | 4 Concordante     | VERO              |
| 5             | 10,8          | 1              | 2,77           | 4           | 20,4        | 28,25         | basso            | intermedio       | 1              | 1              | 3 DP più severa   | VERO              |
| 5             | 5,5           | 3              | 2,75           | 12          | 14,4        | 20            | intermedio       | basso-intermedio | 3              | 3              | 2 DP meno severa  | VERO              |
| 9             | 10            | 2              | 3              | 14          | 21          | 31,5          | basso            | basso-intermedio | 1              | 1              | 2 DP più severa   | VERO              |
| 9             | 8,8           | 2              | 2              | 14          | 20          | 20            | intermedio       | intermedio       | 3              | 3              | 3 Concordante     | VERO              |
| 17            | 16,5          | 3              | 5,88           | 40          | 66          | 194           | intermedio       | intermedio-alto  | 3              | 3              | 4 DP più severa   | VERO              |
| 9             | 10,8          | 2              | 3,41           | 14          | 31,5        | 54            | intermedio       | alto             | 3              | 3              | 5 DP più severa   | FALSO             |
| 12            | 13            | 0,8            | 0,8            | 7,5         | 13,6        | 5,4           | basso-intermedio | basso-intermedio | 2              | 2              | 2 Concordante     | VERO              |
| 7             | 7             | 2              | 3              | 11          | 23          | 34,5          | basso            | basso-intermedio | 1              | 1              | 2 DP più severa   | VERO              |
| 5             | 5,4           | 2              | 1,9            | 7,85        | 5,5         | 5,2           | basso            | basso-intermedio | 1              | 1              | 2 DP più severa   | VERO              |
|               |               |                |                |             |             |               | intermedio       | intermedio       | 3              | 3              | 3 Concordante     | VERO              |
| 1             | 6,8           | 1              | 2,3            | 1           | 12,3        | 14            | intermedio       | intermedio       | 3              | 3              | 3 Concordante     | VERO              |
| 7             | 6,8           | 5              | 4,5            | 27          | 25          | 56            | alto             | alto             | 5              | 5              | 5 Concordante     | VERO              |
| 8             | 7,9           | 3              | 2,8            | 19          | 17          | 21,3          | intermedio       | intermedio       | 3              | 3              | 3 Concordante     | VERO              |
| 20            | 19,5          | 10             | 9,5            | 157         | 180         | 855           | alto             | intermedio-alto  | 5              | 5              | 4 DP meno severa  | VERO              |



| Atipia_concordante | Ulcerazione_concordante | Margini_concordante | Linfocitaria_concordante |
|--------------------|-------------------------|---------------------|--------------------------|
| FALSO              | VERO                    | FALSO               | FALSO                    |
| VERO               | VERO                    | FALSO               | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | FALSO               | VERO                     |
| FALSO              | VERO                    | FALSO               | FALSO                    |
| VERO               | VERO                    | VERO                | FALSO                    |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | FALSO                    |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | FALSO                   | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | FALSO                   | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | FALSO                    |
| VERO               | FALSO                   | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| FALSO              | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| FALSO              | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| FALSO              | FALSO                   | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | FALSO                   | VERO                | FALSO                    |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| FALSO              | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| FALSO              | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| FALSO              | FALSO                   | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| VERO               | VERO                    | VERO                | VERO                     |
| FALSO              | VERO                    | VERO                | VERO                     |

7.6.a) Analisi statistica dei casi





7.6.: b) Distribuzione delle categorie di rischio, c) Variazione della categoria di rischio con Digital Pathology, d) Concordezza tra metodiche per parametro morfologico, e) Confronto dello spessore massimo di infiltrazione, f) Confronto dell'area tumorale, g) Differenza dello spessore massimo per caso, h) Volume tumorale stimato con Digital Pathology, i) Frequenza dei principali fattori sfavorevoli in Digital Pathology.

## 7.7. Protocollo di utilizzo NanoZoomer S60

Procedura completa:

### 1. Accensione

-Controllo preliminare:

Prima di accendere:

- Verificare che il PC di acquisizione sia collegato;
- Controllare che lo scanner sia collegato alla rete;
- Assicurarsi che il caricatore sia vuoto;
- Verificare che la stanza sia a temperatura stabile

-Accensione dello scanner:

1. Premere il tasto Power sul lato/frontale
2. Si accende la luce verde "Power"
3. Lo strumento avvia l'inizializzazione interna:
  - controllo motori
  - controllo ottica
  - reset del carrello

Attendere 2–5 minuti finché il sistema è pronto e non aprire il caricatore durante l'inizializzazione.

-Accensione del computer di controllo:

Dopo che lo scanner ha iniziato l'avvio:

1. Accendere il PC collegato allo scanner
2. Effettuare il login
3. Aprire il software di gestione scansioni (NDP.view 2)

### 2. Preparazione alla scansione:

-Inserimento dei vetrini:

1. Aprire il caricatore
2. Inserire i vetrini con:
  - Etichetta verso l'alto
  - Coprioggetto verso l'alto
3. Assicurarsi che siano asciutti, puliti e senza colla in eccesso
4. Chiudere il caricatore

-Impostazione della scansione nel software:

Nel software:

- Selezionare modalità (Brightfield per H&E)
- Selezionare obiettivo:
  - 20x (standard)
  - 40x (dettaglio nucleare)
- Impostare:
  - Area automatica
  - Autofocus automatico
- Inserire ID caso
- Associare codice a barre

### 3. Scansione

-Avvio scansione:

Cliccare Start Scan.

Il sistema farà:

1. Prescan a basso ingrandimento
2. Identificazione del tessuto
3. Calcolo punti autofocus
4. Scansione ad alta risoluzione
5. Stitching delle immagini

La durata varia dai 2 ai 5 minuti per vetrino a 20x, dai 5 ai 10 minuti a 40x;

### 4. Dopo la scansione:

-Controllo qualità:

Aprire il file con NDP.view.2 e verificare:

- Nitidezza
- Assenza di bande
- Corretta messa a fuoco
- Assenza di artefatti

### 5. Spegnimento:

-Chiudere il software:

1. Terminare eventuali scansioni
2. Chiudere il software di acquisizione
3. Attendere che il sistema torni in stato "Ready"

-Spegnere il PC.

-Spegnere lo scanner:

1. Premere il tasto Power
2. Attendere spegnimento completo
3. La luce verde si spegne

## 7.8. Protocollo di utilizzo NDP.view 2

Fasi di utilizzo:

-Aprire un vetrino digitale

1. Avviare NDP.view.2
2. Selezionare su File → Open
3. Selezionare il file .ndpi (formato generato dal NanoZoomer)
4. Il vetrino si carica come “whole slide image” navigabile

-Navigazione del vetrino

- Rotella del mouse → zoom avanti/indietro
- Click sinistro + trascina → spostamento (pan)
- Barra di zoom → per selezionare l'ingrandimento (2x, 10x, 20x, 40x)

Per valutare:

- Architettura generale → 2x–5x
- Invasione/stroma → 10x
- Atipie cellulari → 20x–40x

-Panoramica (Overview)

In alto o lateralmente si trova la miniatura del vetrino e un rettangolo che indica la zona che si sta osservando, utile per orientarsi quando si osservano i margini chirurgici, i rapporti con l'epidermide e la profondità di invasione.

-Misurazioni

Strumento Measure:

- Selezionare l'icona del righello
- Cliccare su punto A → trascina → punto B
- Misura in micron ( $\mu\text{m}$ ) o mm

Per misurare spessore tumorale, profondità di invasione, distanza dal margine.

-Annotazioni:

- Disegnare cerchi o rettangoli
- Scrivere note
- Evidenziare aree tumorali
- Segnare area di carcinoma
- Identificare margini

Le annotazioni possono essere salvate separatamente.

-Esportare immagini

Per fare screenshot:

1. Selezionare l'area
2. Selezionare File → Export
3. Salvare come TIFF o JPEG ad alta risoluzione

-Sezioni multiple nello stesso file

Se il vetrino contiene più frammenti si può navigare tra le diverse sezioni manualmente e a basso ingrandimento si potranno osservare tutti i pezzi inclusi nello stesso blocco.

## 8. RINGRAZIAMENTI

*Desidero innanzitutto esprimere la mia gratitudine all'Ospedale degli Infermi di Ponderano, in particolare, alla Struttura di Anatomia Patologica e al Dott. Alberto Maria Pisacane, per avermi accolta e per avermi dato la possibilità di svolgere il tirocinio che ha rappresentato una parte fondamentale di questo percorso. Ringrazio tutto il personale per la disponibilità, la professionalità e per quanto ho avuto modo di apprendere durante questa esperienza.*

*Un sentito ringraziamento va al mio relatore, il Professore Elia Ranzato, per avermi accompagnata nella realizzazione di questo lavoro, per la disponibilità, i consigli e il supporto fornito durante la stesura della tesi.*

*Il ringraziamento più grande va alla mia famiglia, che mi ha sostenuta durante tutto il mio percorso universitario. Grazie per esserci sempre stati, per avermi incoraggiata nei momenti più difficili, per aver condiviso con me le soddisfazioni e per aver creduto in me anche quando questo percorso sembrava più lungo e faticoso del previsto. Questo traguardo è anche vostro.*

*A Luca, grazie per essermi stato accanto, per la pazienza, per il sostegno e per aver condiviso con me le gioie, le preoccupazioni e le difficoltà di questi anni. Grazie per aver saputo esserci nei momenti in cui ne avevo più bisogno e per aver reso più leggero anche ciò che, a volte, sembrava insormontabile.*

*Infine, desidero ringraziare tutte le persone che, in modi diversi, hanno fatto parte di questo percorso e che hanno contribuito a rendere questi anni un'esperienza importante della mia vita.*

*A tutti voi, grazie.*

