

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE CHIRURGICHE

Ciclo 36

Settore Concorsuale: 06/D4 - MALATTIE CUTANEE, MALATTIE INFETTIVE E MALATTIE DELL'APPARATO DIGERENTE

Settore Scientifico Disciplinare: MED/35 - MALATTIE CUTANEE E VENEREE

PROGRESSIONE DALLA CHERATOSI ATTINICA AL CARCINOMA
SQUAMOCELLULARE LOCALMENTE AVANZATO: CLINICA,
DERMATOSCOPIA E MARKER MOLECOLARI

Presentata da: Federico Tartari

Coordinatore Dottorato

Bianca Maria Piraccini

Supervisore

Emi Dika

Esame finale anno 2024

INDICE

ABSTRACT	3
I. INTRODUZIONE	5
<i>1.1 Il carcinoma a cellule squamose cutaneo</i>	<i>5</i>
1.1.1 <i>Eziologia e patogenesi</i>	5
1.1.2 <i>Classificazione clinico-patologica</i>	6
1.1.3 <i>Stadiazione e prognosi</i>	11
1.1.4 <i>Diagnosi e terapia</i>	13
<i>1.2 Dermatoscopia nel carcinoma squamocellulare cutaneo</i>	<i>15</i>
1.2.1 <i>Criteri dermoscopici per SCC</i>	16
<i>1.3 Immunoistochimica nel carcinoma squamocellulare cutaneo</i>	<i>18</i>
1.3.1 <i>P16</i>	18
1.3.2 <i>Ki67</i>	19
II. STUDIO SPERIMENTALE	21
<i>2.1 Materiali e metodi</i>	<i>21</i>
<i>2.2 Risultati</i>	<i>25</i>
2.2.1 <i>Caratteristiche demografiche e dermoscopiche</i>	25
2.2.2 <i>Follow-up</i>	28
2.2.3 <i>Biomarkers</i>	29
<i>2.3 Discussione</i>	<i>31</i>
<i>2.4 Conclusioni e sviluppi futuri</i>	<i>36</i>
III. BIBLIOGRAFIA	38

ABSTRACT

Il carcinoma a cellule squamose è un tumore della pelle la cui incidenza è in costante crescita. Per questo motivo si sta ritagliando uno spazio sempre più importante all'interno di quella che è la dermatologia oncologica. Sebbene la nostra accuratezza diagnostica sia in progressivo miglioramento rimangono due nodi fondamentali da sciogliere: la differenziazione delle forme precoci dalla controparte precancerosa (cheratosi attinica), ed il riconoscimento di lesioni particolarmente aggressive con possibile prognosi infausta per stabilire un trattamento adeguato.

La maggior attenzione rivolta a queste neoplasie ha portato negli ultimi anni ad innumerevoli pubblicazioni ed alla produzione di molteplici linee guida con indicazioni talvolta non conclusive, che spesso creano confusione nella pratica clinica quotidiana.

In questo studio vengono prese in esame queste due problematiche analizzando la casistica a nostra disposizione. Vengono quindi valutati i criteri diagnostici dermoscopic ed il follow up clinico e strumentale del carcinoma a cellule squamose con un intento di semplificare per rendere più agevole la pratica clinica. Inoltre, viene valutata l'utilità di alcuni marker molecolari come le proteine p16 e Ki67, che risultano facilmente reperibili, e la cui ricerca risulta poco costosa per valutarne l'utilità di uno studio più ampio in occasione di migliorare la definizione prognostica di queste lesioni.

I. INTRODUZIONE

1.1 Il carcinoma squamocellulare cutaneo

Il carcinoma squamocellulare cutaneo (cSCC) rappresenta una neoplasia maligna derivante dai cheratinociti dell'epitelio cheratinizzato della pelle, delle mucose e degli annessi cutanei. Questo tipo di tumore costituisce circa il 20-25% di tutte le neoplasie cutanee ed è, in considerazione della frequenza di queste patologie, uno dei tumori più diffusi in assoluto (1). Negli ultimi anni, l'incidenza del cSCC è aumentata rapidamente, tanto da superare il 30% di tutti i tumori cutanei in alcuni studi (2,3).

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 (4,5). Negli Stati Uniti, nel 2006, sono stati stimati circa 2,2 milioni di casi di tumori cutanei non melanoma, di cui 600.000 erano attribuibili a cSCC. Un altro studio statunitense ha calcolato che nel 2012 si sono verificati dai 4.000 ai 9.000 decessi a causa del cSCC (4,5).

1.1.1 Eziologia e patogenesi

Il principale fattore di rischio associato al cSCC 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 lesioni precancerose note come cheratosi attiniche (i.e. actinickeratosis, AK) (6,7). L'età avanzata, il fototipo cutaneo chiaro e l'immunosoppressione rappresentano ulteriori importanti fattori di rischio per lo sviluppo del cSCC. La pelle chiara è più suscettibile all'esposizione cronica ai raggi UV, aumentando così il rischio associato a questo fattore ambientale. 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 (8).

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 (i.e. Human Papilloma Virus). 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 (9). Si stima che i pazienti sottoposti

a trapianto di organo solido abbiano un rischio di sviluppare il cSCC da 65 fino a 250 volte superiore rispetto alla popolazione generale, a causa dell'immunosoppressione (10).

1.1.2 Classificazione clinico-patologica

Il cSCC colpisce principalmente la pelle esposta cronicamente ai raggi UV, come il viso, il cuoio capelluto, le orecchie e le labbra, ma può interessare anche regioni genitali, perineali e anali in associazione con l'infezione da HPV. Il cSCC ha origine dall'epidermide o dagli annessi cutanei, presentandosi come singole cellule o gruppi di cellule atipiche intraepiteliali (neoplasia in situ). Da queste lesioni, il tumore può estendersi nel derma e nel tessuto sottocutaneo, acquisendo un grado di differenziazione variabile, che può andare dalla cheratinizzazione ben evidente a forme meno differenziate. Inoltre, spesso si osserva elastosi solare nel derma circostante (11).

Esistono diverse varianti istologiche del carcinoma squamocellulare, alcune delle quali sono riportate nella *Tabella 1*. La classificazione del cSCC è basata su caratteristiche istologiche e cliniche che influenzano la prognosi della malattia (11).

Tabella 1: varianti del carcinoma spinocellulare, modificato da Motaparthy et al. (12).

Varianti	Sede	Caratteri istologici	IHK	Lesioni associate	Prognosi
Cheratoacantoma	Testa collo; aree esposte	Ben differenziato, cratere centrale con cheratina; base netta; confinato al derma	NA	CA	Favorevole
Linfoepiteliale	Testa collo; aree esposte	Cellule linfoidi frammiste a cellule neoplastiche	Positiva: CK, p63 Negativa: CK20, EBV	Non riportato	Prevalentemente buona

Verrucoide	Genito- crurale, piedi	Ben differenziato, papille acantose, cheratina tra le papille	NA	Lichen scleroso, VIN, PeIN, AIN	Eccellente (pura), varianti ibride correlata componente meno differenziata
Pseudoghiandolare (acantolitica, adenoide, pseudovascolare)	Testa collo; aree esposte	Pseudovascolare, pseudoghiandolare, spazi secondari all'acantolisi	Positiva:CK, p63, p40 Negativa: CEA, CD31, CD34, Fli-1, mucicarminio	CA	Intermedia/ variabile
Adenosquamosa e mucoepidermoide	Testa collo; aree esposte	Focolai di vera differenziazione ghiandolare	Positiva: CEA; mucicarminio	CA	Da intermedia ad aggressiva
Desmoplastica (sclerosante)	Testa collo; aree esposte	Reazione fibrotica (reattiva); frequente invasione perineurale frequente	Positiva: CK, p63, p40	CA	Da intermedia ad aggressiva (recidive)
A cellule fusate (sarcomatoide)	Testa collo; aree esposte	Cellule fusate pleomorfe; mitosi atipiche; assenza di cheratinizzazione	Positiva: CK, p63, p40 Negativa: S100, SOX10, desmina	CA	Solitamente buona se superficiali, aggressiva se profonda e/o genitale
Mixoide	Testa collo; aree esposte	Stroma mucinoso prominente	Positiva: ferro colloidale (stroma)	CA	Solitamente buona se superficiali, aggressiva se profonda e/o genitale

Carcinosarcoma	Testa collo; aree esposte	Tumore bifasico; epiteliale / mesenchimale (condro, osteo); componente eterologa	Positiva: CK, p63, p40 (epiteliale) Variabile +/- stroma	CA	Intermedia, aggressivo; diagnosi tardiva
Malattia di Bowen invasiva	Testa collo; aree esposte	Aggregati basaloidi; cheratinizzazione centrale o comedo- necrosi	Positiva: CK, p63, p40	Malattia di Bowen (CS in situ con aspetti basaloidi/ bowenoidi)	Da intermedia ad aggressiva
Basaloide	Solitamente su mucose (anche cute genitale e perianale)	Nidi di cellule basaloidi; comedo- necrosi; invasione vascolare prominente	Positiva: CK, p63,p40, p16, HPV alto rischio Negativa: BER- ep4, ck20	cSCC in situ basaloide/ verrucoso (PeIN, VIN, AIN)	Aggressiva
Carcinoma verrucoso	Solitamente su mucose (anche cute genitale e perianale)	Superficie papillare e base frastagliata; coilocitosi a tutto spessore	Positiva: CK, p63, p40, p16, HPV alto rischio	cSCC in situ basaloide/ verrucoso (PeIN, VIN, AIN)	Intermedia

*AIN (neoplasia intraepiteliale anale); CA (cheratosi attinica); CD (cluster di differenziazione); CEA (antigene carcinoembrionale); CK (citocheratine); HPV (Human Papilloma Virus); IHC (immunoistochimica); NA (non applicabile); PeIN (neoplasia intraepiteliale peniena); cSCC (carcinoma spinocellulare); VIN (neoplasia intraepiteliale vulvare).

1. **Carcinoma 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: epiteloma cuniculatum). Può essere associato ad alcuni sottotipi di HPV (HPV 6 e 11 nell'epiteloma cuniculatum, 16 e 18 nella papillomatosi orale florida e nel CVE anogenitale).

2. **Carcinoma verrucoso (CVr)**: simile a CVe, di aspetto papillomatoso ma con una componente più infiltrativa ed aggressiva e con aspetti coilocitici. In sede vulvare e peniena è associato rispettivamente a VIN e PIN.

3. **Carcinoma squamocellularebasaloide (CSB)**: Neoplasia con aspetti solidi o lobulari di cellule simil-basali di piccole dimensioni e raggruppate, nuclei ipercromatici, ialinosi e necrosi coagulativa. Le cellule sono positive per i marcatori immunocitochimici per le citocheratine, ma sono negative per Ber-EP4. Può essere associato ad alcuni sottotipi di HPV. In sede orofaringea e anogenitale è associato a cSCC in situ e nelle localizzazioni vulvari a VIN. Ha un comportamento aggressivo con possibilità di recidive e metastasi.

4. **Carcinoma squamocellulare papillare (CSP)**: Proliferazione esofitica papillare con un asse fibrovascolare senza evidenza di invasione dermica profonda.

5. **Carcinoma squamocellulare cheratinizzante (CSK)**: Proliferazione epidermoide ben o moderatamente differenziata spesso associata a VIN e PIN e a dermatosi croniche tipo lichen scleroso.

6. **Carcinoma squamocellulare tipo cheratoacantoma (CSKA)**: Simula un cheratoacantoma ma presenta caratteri istologici più aggressivi con infiltrazione più estesa, anaplasia, pleomorfismo e numerose mitosi.

7. **Carcinoma squamocellulare sarcomatoide (CSSa)**: Il 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. Difficile la diagnosi differenziale con altre neoplasie a cellule fusiformi. L'indagine immunohistochimica dimostra la positività delle cellule tumorali con le citocheratine, in particolare CK5-6 e CK34betaE12 e EMA. È importante differenziare questa variante da alcuni simulatori tipo il fibroxantoma atipico, il melanoma, i sarcomi a cellule fusate superficiali (leiomioma sarcoma, istiocitoma fibroso maligno superficiale). Il decorso del CSSa a cellule fusate di solito non è aggressivo, sebbene il suo verificarsi nel contesto di una radiodermite possa portare a una prognosi sfavorevole.

8. **Carcinoma squamocellulare adenoide (CSA)**: con aspetti acantolitici, pseudoghiandolari e pseudovascolari. Caratterizzato da una maggiore aggressività, recidività e possibilità di metastasi.

9. **Carcinoma squamocellulare adenosquamoso (CSAS) e acantolitico (CSAC):** Variante aggressiva con capacità di recidiva e di metastasi; spesso aspetti anaplastici con differenziazione simil ghiandola. Il CSAC rappresenta il 2-4% di tutti i CSc.

10. **Carcinoma squamocellulare 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.

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

12. **Carcinoma squamocellulare a cellule ad anello con castone (CSaAC):** Le cellule del carcinoma simulano cellule ad anello con castone con vacuoli intracitoplasmatici.

13. **Carcinoma squamocellulare 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. Una rara variante è rappresentata dal melanocarcinoma che rappresenta una commistione tra un CS e un melanoma.

14. **Carcinoma squamocellulare follicolare (CSF):** Proliferazione che origina dalla parete di un follicolo pilifero con parziale o totale sostituzione dell'infundibolo follicolare e delle ghiandole sebacee.

15. **Carcinoma squamocellulare insorto su idrocistoma eccrino ed apocrino.**

Esistono alcune lesioni spesso riconosciute come precursori del cSCC:

- **Cheratosi attinica:** lesione composta da cheratinociti atipici localizzati prevalentemente negli strati inferiori dell'epidermide, senza interessarla a tutto spessore. Clinicamente si presenta come una lesione ipercheratosica localizzata nelle aree fotoesposte;
- **Malattia di Bowen:** somiglia sia clinicamente che istologicamente ad una cheratosi attinica, ma i cheratinociti atipici interessano la lesione a tutto spessore, rimanendo però confinati all'epidermide (in-situ);

- **Cheratoacantoma:** È una lesione cutanea a rapida crescita e molto simile a un cSCC convenzionale ma che può regredire spontaneamente. È controverso se questa lesione sia un'entità separata oppure un sottotipo ben differenziato di cSCC.

.1.1.3 Stadiazione e prognosi

La valutazione del grado di differenziazione prevede quattro categorie definite in relazione al rapporto tra cellule differenziate ed indifferenziate. I cSCC si definiscono come Gx se il grado di differenziazione non risulta valutabile, G1 se ben differenziato; G2 se moderatamente differenziato; G3 se scarsamente differenziato; G4 se indifferenziato. 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 intercitoplasmatici, numerose mitosi a disposizione irregolare. Nel 2000, la *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)* ha diviso cSCC in gruppi ad alto rischio e basso rischio in base alla probabilità di recidiva e metastasi, tale distinzione permane tutt'ora nelle linee guida attuali. Le linee guida per stadiazione terapia e follow up sono molteplici, e negli ultimi anni a livello europeo un gruppo interdisciplinare pubblica un report delle principali a confronto (13).

Figura 1: confronto tra classificazioni e linee guida SCC da Stratigos AJ, Garbe C, et al. EADO, EDF, ESTRO, UEMS, EADV and EORTC(1).

UICC	AJCC	BWH ^a	Breuninger
cT Primary tumour	cT Primary tumor	T1 0 High-risk factors	cT: Tumour size (clinical; two classes) 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
Tis Carcinoma in situ	T3 Tumor ≥4 cm in greatest diameter or minor bone invasion or perineural invasion or deep invasion ^c	T3 4 High-risk factors or bone invasion	No risk ≤2 mm
T1 Tumour ≤2 cm in greatest dimension	T4a Tumour with gross cortical bone and/or marrow invasion		Low risk > 2-6 mm
T2 Tumour > 2 cm and ≤4 cm in greatest dimension	T4b Tumour with skull bone invasion and/or skull base foramen involvement		High risk > 6 mm
T3 Tumour > 4 cm in greatest dimension or minor bone erosion or PNI or deep invasion ^b			Higher risk of metastasis: 1. Immunosuppression 2. Desmoplastic type or poor differentiation 3. Localization ear
T4a Tumour with gross cortical /marrow invasion			
T4b Tumour with axial skeleton/ skull base/foraminal involvement			

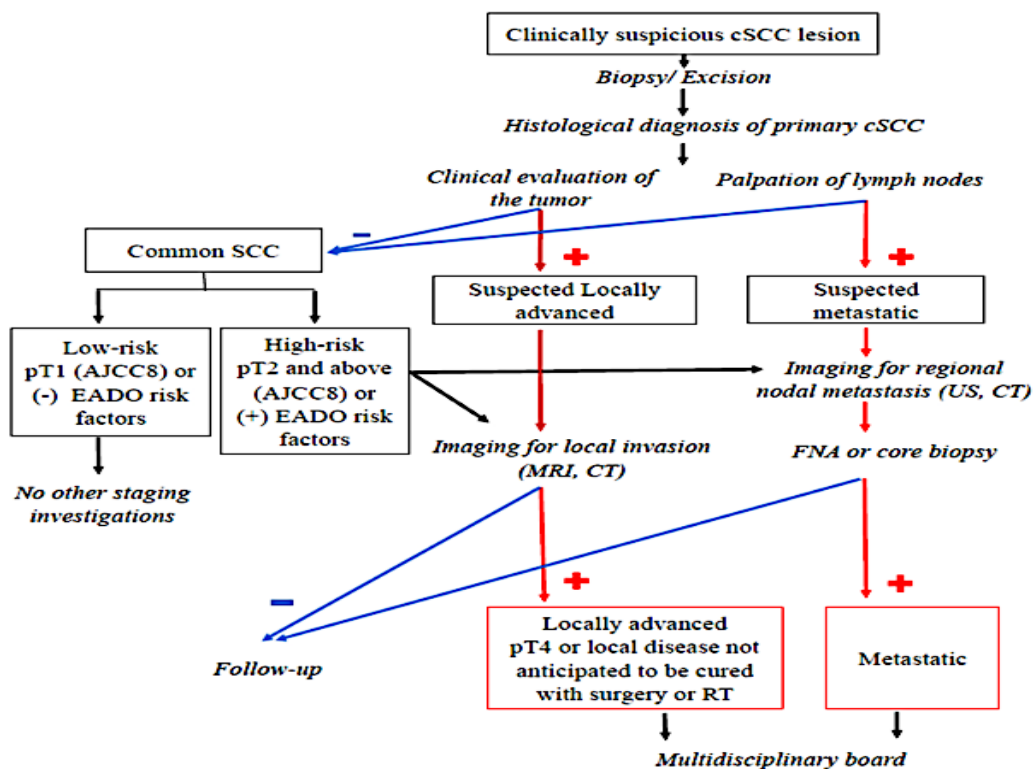
Come è facilmente evidenziabile, tutte le linee guida sopracitate prendono in considerazione per la stadiazione il diametro della lesione. Lo spessore tumorale, invece, non riveste un'importanza centrale se non quando esso supera i 6 mm.

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 maggiore di 20 mm
- Localizzazione a 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 nella Figura 2.

Figura 2.: riassunto algoritmo diagnostico-terapeutico da Stratigos et. al. (13).



1.1.4 Diagnosi e terapia

Il trattamento di scelta per il carcinoma squamocellulare cutaneo (cSCC) è l'asportazione chirurgica completa con una rigorosa valutazione istopatologica dei margini di resezione. Anche nei pazienti anziani o in situazioni in cui le dimensioni o la localizzazione del tumore presentano sfide significative in termini funzionali o cosmetici, la chirurgia rimane di solito l'opzione più corretta. Tuttavia, in alcune circostanze, è possibile considerare alternative non chirurgiche.

Nel caso di cheratosi attiniche o cSCC multipli in situ, spesso associati a danni cronici da esposizione al sole, è possibile valutare terapie alternative come la crioterapia, il curettage ed elettrocoagulazione, la terapia fotodinamica, l'Imiquimod e l'Ingenolomebutato (14). La radioterapia può essere una scelta appropriata per i cSCC invasivi non candidabili alla chirurgia o come trattamento adiuvante in casi di cSCC ad alto rischio di recidiva dopo l'intervento chirurgico (15). Nelle situazioni in cui il cSCC è metastatico o localmente avanzato e non può essere trattato con chirurgia, talvolta la chemioterapia o la chemioradioterapia possono essere considerate. I trattamenti utilizzati possono variare e comprendere agenti come il cisplatino, il carboplatino, gli inibitori dell'EGFR o l'immunoterapia.

Figura 3: voluminoso cSCC del cuoio capelluto



Figura 4: SCC multipli del cuoio capelluto su campo di cancerizzazione



Figura 5: voluminoso cSCC del collo



1.2 Dermatoscopia nel carcinoma squamocellulare cutaneo

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. Inoltre, è impiegata nel monitoraggio delle lesioni melanocitarie. Alcuni studi stimano che quasi il 90% dei dermatologi europei utilizzino la dermatoscopia come parte della loro pratica di routine (16).

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 (17). 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 il gold-standard 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.

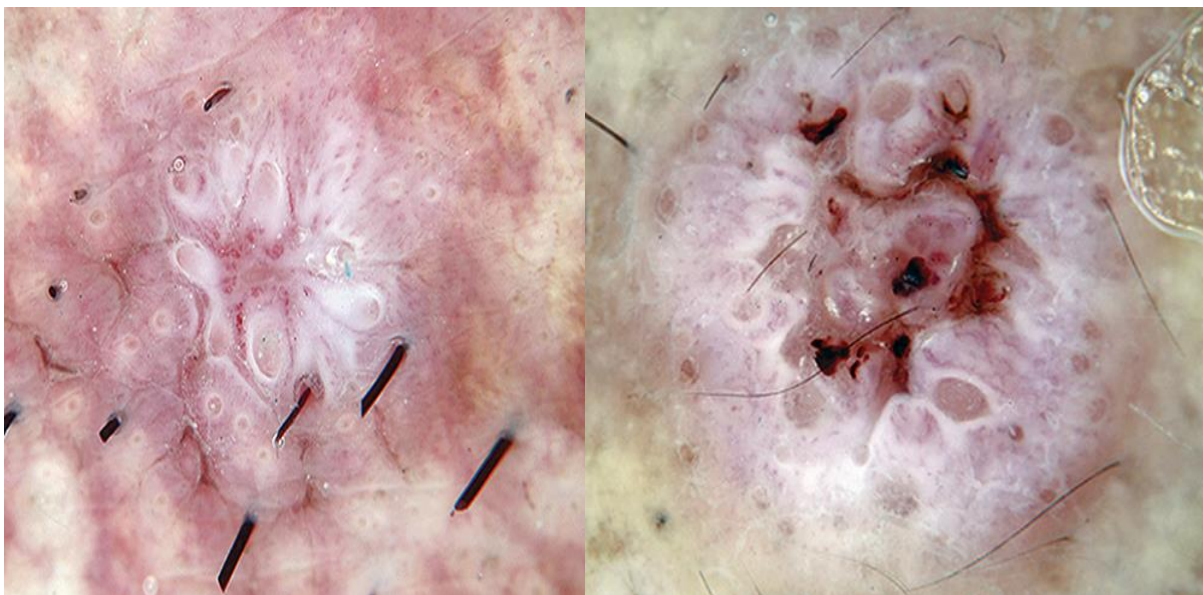
1.2.1 Criteri dermoscopic per SCC

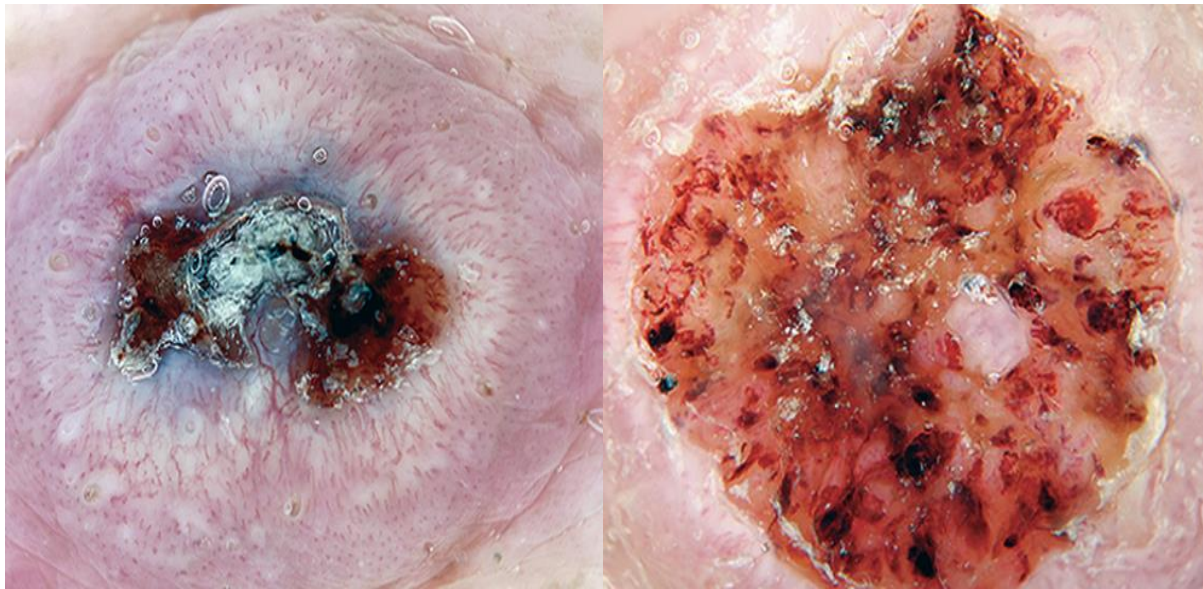
Le caratteristiche dermoscopiche presenti in letteratura sono state inizialmente valutate da Zalaudek et al (18) poi rielaborate da Combalia et al (19) sono le seguenti:

- 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 (follicoli piliferi targetoidi);
- 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.

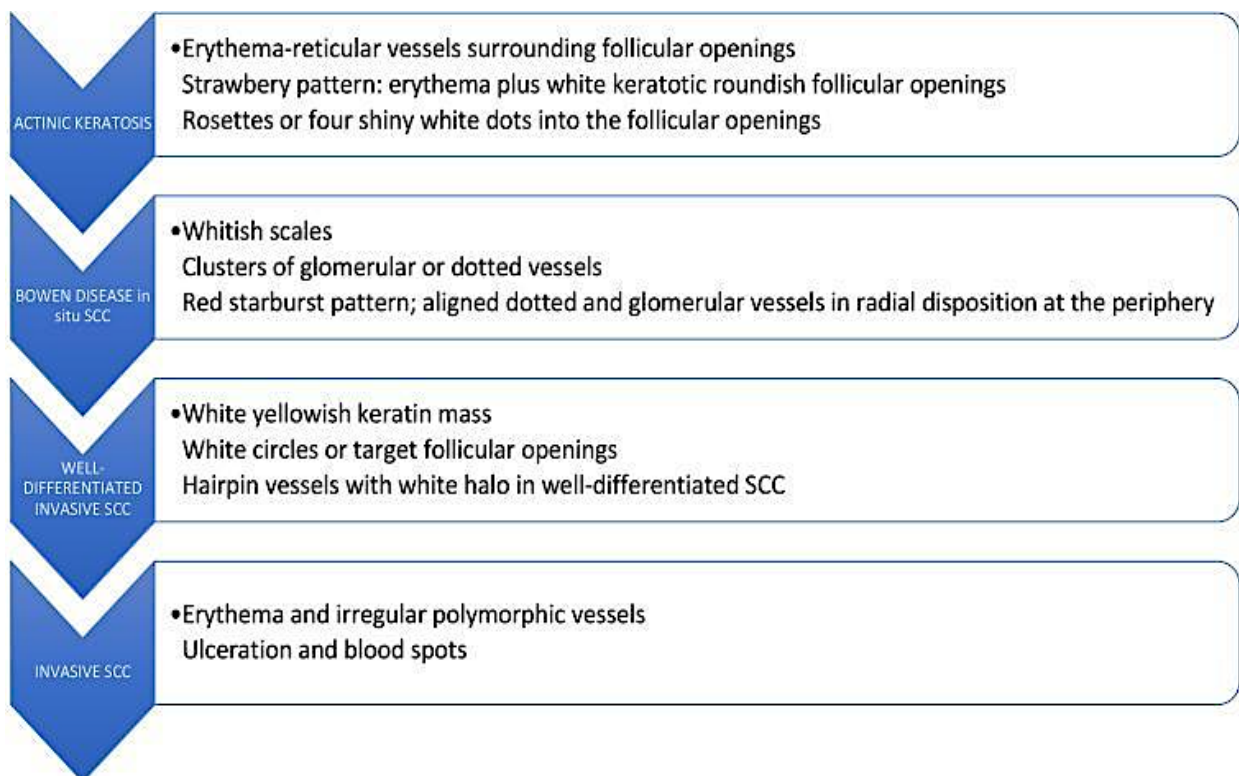
Figura 6: esempi di immagini dermoscopiche di SCC da Rosendahl et. al. (20).





In Combalia et al. (19) viene anche proposto a tal riguardo un modello di progressione (Figura 7).

Figura 7: spettro delle caratteristiche dermoscopiche di SCC come continuum dalla cheratosi attinica (19).



1.3 Immunoistochimica nel carcinoma squamocellulare cutaneo

L'immunoistochimica è una tecnica fondamentale per la diagnosi tissutale e il rilevamento di biomarcatori ampiamente utilizzata in tutto il mondo. 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 (21). Sempre più frequentemente vengono resi disponibili marcatori immunoistochimici per le proteine normali o mutate in seguito ad eventi di carcinogenesi. Inoltre, è possibile ottenere informazioni riguardanti la prognosi ed eventuale malattia residua mediante l'immunoistochimica (22,23).

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. Gli anticorpi monoclonali vengono generalmente generati utilizzando tecnologie di ibridomi, i dettagli dei quali vanno oltre lo scopo di questa introduzione (24). 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. Il cromogeno più comunemente utilizzato è il 3,3'-diamminobenzidina tetracloridrato (DAB), che forma un pigmento marrone stabile (25).

1.3.1 Proteina p16

La proteina p16, anche conosciuta come INK4A o CDKN2A, è una proteina che svolge un ruolo importante nella regolazione del ciclo cellulare. La sua principale funzione è quella di inibire l'attività delle proteine ciclina-dipendenti chinasi (CDK), specificamente CDK4 e CDK6. Queste CDK sono coinvolte nella regolazione del ciclo cellulare, promuovendo la progressione dalla fase G1 alla fase S, che è cruciale per la duplicazione del DNA e la divisione cellulare (26).

L'iperespressione della proteina p16 rappresenta un eccellente biomarcatore surrogato per l'associazione con l'HPV nei carcinomi squamocellulari di diverse localizzazioni, poiché

la proteina precoce dell'HPV E7 induce l'iperespressione di p16 nei tumori correlati all'HPV. Nei casi di cancro non correlato all'HPV, il gene CDKN2A, che codifica la p16, è mutato o assente in quasi tutti i casi; quindi, in genere non si osserva l'espressione di p16 in questi tumori.

Il cancro mediato dall'HPV è una entità patologica distinta, con diverse caratteristiche epidemiologiche, molecolari e cliniche, ed è caratterizzato da una maggiore responsività al trattamento e una sopravvivenza migliore rispetto al cancro non correlato all'HPV. A causa di queste differenze prognostiche, l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) e l'Union for International Cancer Control (UICC) hanno sviluppato classificazioni separate per le malattie correlate e non correlate all'HPV, specialmente in riferimento all'origine (ad esempio, orofaringea) (27).

1.3.2 Proteina Ki67

La proteina Ki67 è una proteina nucleare che funge da marcatori di proliferazione cellulare ed è ampiamente utilizzata per valutare l'attività proliferativa delle cellule nei tessuti. La peculiarità della proteina Ki67 è che è espressa durante tutte le fasi attive del ciclo cellulare, ad eccezione della fase G0, quando le cellule sono in uno stato di riposo. Questo la rende un indicatore affidabile dell'attività proliferativa delle cellule. Per valutare l'espressione di Ki67 nei tessuti, vengono impiegate tecniche di immunohistochimica, consentendo così di visualizzare e quantificare il numero di cellule in fase attiva di divisione(28).

II. STUDIO SPERIMENTALE

2.1 Materiali e metodi

Sono stati raccolti casi di carcinoma a cellule squamose e di cheratosi attiniche afferenti alla dermatologia del Policlinico Sant'Orsola - Malpighi, Bologna, con i seguenti obiettivi:

1. Creare un database più ampio possibile che contenesse le immagini dermoscopiche delle lesioni e le relative caratteristiche cliniche-patologiche;
2. Evidenziare le caratteristiche dermoscopiche più associate alla progressione da cheratosi attinica a carcinoma a cellule squamose;
3. Valutare le caratteristiche patologiche di queste lesioni ed il loro follow up con particolare riferimento allo spessore tumorale;
4. Selezionare un campione di lesioni che mostrano una progressione verso il cSCC localmente avanzato, per valutare l'utilità di un futuro studio più ampio alla ricerca di biomarker con valore prognostico.

Globalmente sono stati raccolti circa 200 casi, in base alle caratteristiche da questo database sono stati selezionati per le varie sezioni

Sono state valutate le immagini di 54 cheratosi attiniche e di 76 carcinomi a cellule squamose. Le lesioni erano tutte <2 cm in spessore, interessanti il distretto testa-collo e clinicamente si presentavano come lesioni ipercheratosiche. Le immagini sono state valutate da tre differenti dermatologi che utilizzano quotidianamente la dermatoscopia, in maniera indipendente, riconoscendo in esse la presenza o l'assenza delle caratteristiche distintive dei tumori che prendono origine dai cheratinociti. Tali caratteristiche sono state selezionate dai due principali articoli sopra citati, e sono state riadattate e semplificate, accorpando alcune di esse, in modo da poter creare 3 categorie con 3 caratteristiche ciascuna.

A differenza degli studi presenti in letteratura il valutatore non conosceva la diagnosi, ma associava solamente il pattern alla lesione. Questo perché lo studio è stato pensato non nell'ottica di trovare nuove caratteristiche, ma di semplificare quelle presenti e di dare una indicazione rapida nella pratica clinica quotidiana.

Di seguito le 3 categorie:

1. *Tipologia di vascolarizzazione*

- Vasi a forcina o glomerulari (Coiled, glomerular)
- Altri pattern vascolari (arboriformi, puntiformi ecc.)
- Assenza di vascolarizzazione evidente

2. *Distribuzione della cheratina*

- Centrale
- White circle
- White structurless

3. *Presenza di ulcerazione o erosione*

- Presenza di ulcerazione
- Presenza di erosione o spot vascolari
- Assenza di ulcerazione/erosione

Le caratteristiche 1 e 3 sono state considerate esclusive, ovvero la presenza di una di esse escludeva le altre della medesima categoria indicando quindi il pattern vascolare prevalente, o la presenza o assenza di ulcerazione/erosione. Al contrario, quelle del gruppo 2 in funzione della presenza spesso contemporanea di più di una caratteristica sono state considerate non esclusive. Ove ci fosse discordanza tra i 3 operatori la lesione veniva rivalutata collegialmente in modo da arrivare ad una conclusione.

L'associazione è stata poi valutata mediante il calcolo dell'odds ratio (OR). Per le variabili 1 e 3 è stato anche possibile calcolare specificità e sensibilità come singolo strumento diagnostico.

Figura 8: dermatoscopia di carcinoma squamocellulare cutaneo: la freccia indica la cheratina centrale, nel cerchio i vasi a forcina e nel quadrato i vasi glomerulari

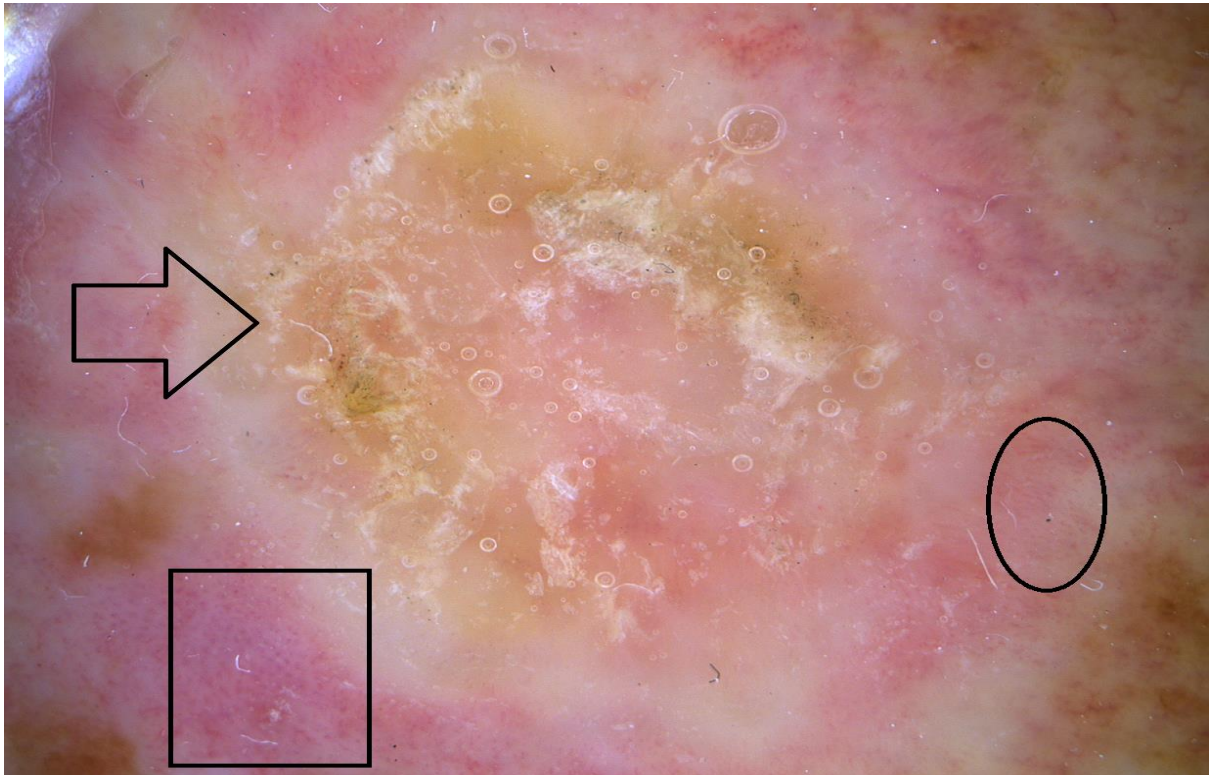


Figura 9: dermatoscopia di cheratosi attinica, nel quadrato i cerchi bianchi

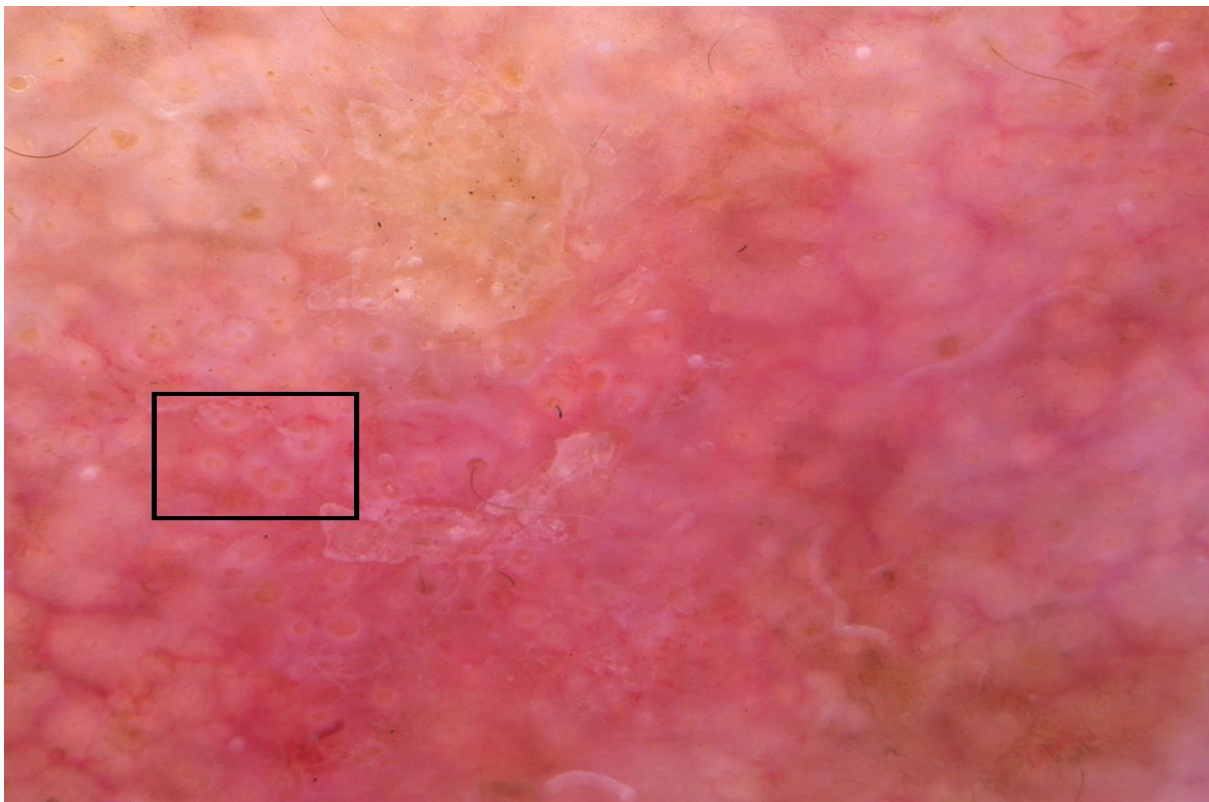
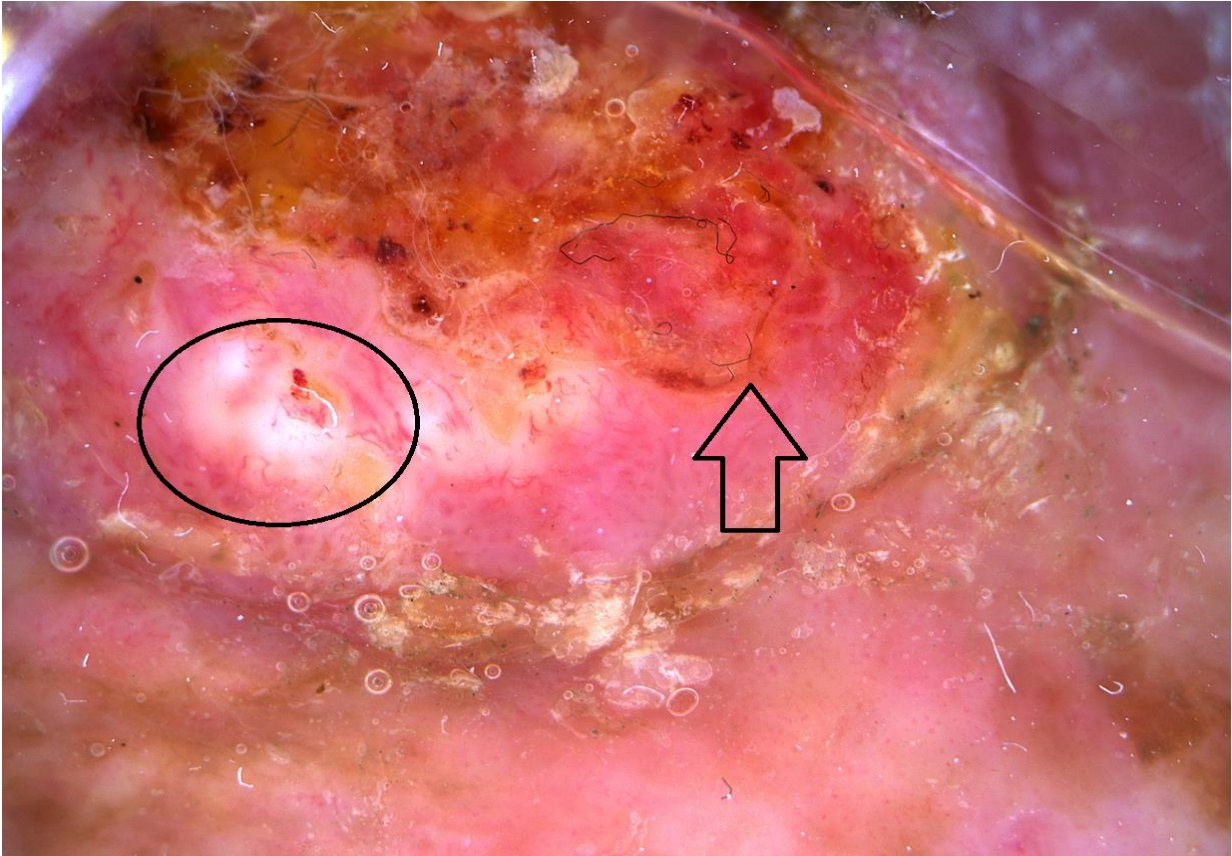


Figura 10: dermatoscopia di carcinoma a cellule squamose: nel cerchio si possono apprezzare le are bianche structurless, altri vasi (altri pattern) e una zona erosa. La freccia indica ulcerazione centrale coperta da escara.



Dal database sono poi state selezionate 57 lesioni complete di follow up di almeno 2 anni, in sedi considerate ad “alto rischio” (orecchie 28, tempie 26, labbra 3), ma con spessore inferiore a 2 mm, per valutare l’adeguatezza del sistema di stadiazione attuale in relazione allo spessore tumorale.

Dal database sono stati infine selezionati casi di cSCC ad alto spessore (12 lesioni), ma non ancora da considerarsi localmente avanzati (>2 mm, ma <6 mm), e sottoposti alla valutazione di espressione di Ki67 e p16, al fine di valutare l’utilità di uno studio più ampio su queste lesioni “intermedie“. Tale ricerca è stata effettuata tramite immunohistochimica utilizzando anticorpi monoclonali contro le proteine Ki67 e p16 e diaminobenzidina come cromogeno, con l’obiettivo di evidenziare biomarkers dal valore prognostico.

2.2 Risultati

2.2.1 Caratteristiche demografiche e dermoscopiche

Sono state analizzate 54 cheratosi attiniche (AK) e 76 carcinomi a cellule squamose (cSCC). L'età media nel gruppo delle cheratosi attiniche (AK) è risultata pari a 71.2 anni con un rapporto M/F pari a 2:1. L'età media nel gruppo dei carcinomi a cellule squamose è risultata pari a 74.3 anni, con un rapporto M/F di 1.75.

Tabella 2: analisi dermoscopicane dei due gruppi secondo la caratteristica 1 (i.e. tipologia di vascolarizzazione)

	<i>Cheratosi Attiniche, % (n=54)</i>	<i>Carcinomi a cellule squamose, % (n=76)</i>	<i>p-value</i>
<i>Vasi a forcina o glomerulari</i>	25.9 (14/54)	64.5 (49/76)	<0.05
<i>Altri vasi</i>	11.1 (6/54)	10.5 (8/76)	Non significativo
<i>Vascolarizzazione non evidente</i>	62.9 (34/54)	25 (19/76)	<0.05

Tabella 3: analisi dermoscopia nei due gruppi secondo la caratteristica 2 (i.e. distribuzione della cheratina)

	<i>Cheratosi Attiniche, % (n=54)</i>	<i>Carcinomi a cellule squamose, % (n=76)</i>	<i>p-value</i>
<i>Cheratina centrale</i>	35.1 (19/54)	63 (48/76)	<0.05
<i>Aree bianche structureless</i>	9.2 (5/54)	34.2 (28/76)	<0.05
<i>Cerchi bianchi</i>	51.85 (28/54)	43.4 (33/76)	Non significativo

Tabella 4: analisi dermoscopia nei due gruppi secondo la caratteristica 3 (i.e. presenza di ulcerazione o erosione)

	<i>Cheratosi Attiniche, % (n=54)</i>	<i>Carcinomi a cellule squamose, % (n=76)</i>	<i>p-value</i>
<i>Erosioni</i>	9.2(5/54)	38.15 (29/76)	<0.05
<i>Ulcerazione</i>	3.7(2/54)	19.7 (15/76)	<0.05
<i>Assenza di erosione/ulcerazione</i>	87.0 (47/54)	42.1(32/76)	<0.05

Tramite il calcolo dell'Odds ratio (OR) è stato valutato quale delle variabili soprariportate sono maggiormente associate alla progressione da cheratosi attinica a carcinoma squamocellulare cutaneo (Tabella 5).

Tabella 5: variabili dermoscopiche e odds ratio.

Variabile dermoscopica	Odds Ratio (OR), CI
Vasi a forcina o glomerulari	5.19 (2.4 - 11.1)
Altri vasi	0.94 (0.3 – 2.8)
Vascolarizzazione non evidente	0.2 (0.09 – 0.4)
Cheratina centrale	3.15 (1.5 – 6.5)
Cerchi bianchi	0.71 (0.3 – 1.4)
Aree bianche structurless	5.7 (2.0 – 16.0)
Erosioni	6.0 (2.1 – 16.9)
Ulcerazione	6.3 (1.3 – 29.2)
Assenza di erosione o ulcerazione	0.10 (0.04 – 0.2)

In base all'analisi statistica le variabili maggiormente indicative di progressione per ciascun gruppo sono state vasi a forcina o glomerulari (sensibilità pari a 64.4%, specificità pari a 79.4%) aree bianche structurless e la presenza di erosione e/o ulcerazione (sensibilità 51.3% specificità 87.4 %) (p <0.05).

Altro dato notevole inoltre risulta essere la *concordanza interoperatore*. Semplificando infatti il numero totale di caratteristiche ed accorrandole come abbiamo fatto la possibilità che un operatore riconoscesse strutture diverse da un altro è stata estremamente bassa:

- nelle variabili del gruppo 1 è risultata > 70%
- nelle variabili del gruppo 2 è risultata >80%
- nelle variabili del gruppo 3 è risultata >75%

Si evidenzia quindi come la distribuzione della cheratina, ed in particolare la presenza di aree biancastre structurless sia un ottimo segno predittivo di progressione facilmente identificabile con elevata concordanza

2.2.2 Follow-up

Delle 57 lesioni complete di follow-up (media pari a 37 mesi), in sedi considerate ad “alto rischio” (**orecchie 28, labbra 3, tempie 26**), ma con spessore inferiore a 2 mm, l’età media è risultata 75.9, ed il rapporto M/F pari a 1.54.

Il diametro medio delle lesioni 1.1 cm, quindi quasi tutte T1 ed il grado di differenziazione così composto:

- G1 48/57 (84.2%)
- G2 8/57 (14%)
- G3 1/57 (1.8%).

Lo spessore medio è risultato pari a 1.26 mm (massimo 2 mm, minimo 0.3). Tutte queste lesioni avrebbero dovuto essere sottoposte a follow-up clinico e strumentale secondo la flowchart riportata nell’introduzione per presenza di fattore di rischio EADO.

L’obiettivo in questo caso era dimostrare che queste lesioni non necessitano di follow-up strumentale qualora lo spessore risulti di piccole dimensioni, per arrivare in un futuro ad un superamento dei fattori di rischio EADO e ad una prescrizione di esami diagnostici più accurata. Nella nostra casistica sono state riportate:

- 0 metastasi
- 4 recidive locali (o piuttosto nuova lesione in campo di cancerizzazione)

L'assenza di eventi metastatici e la tipologia di dati raccolti in impedisce la possibilità di analisi statistiche più complesse, si presta però ad un confronto con i dati di letteratura che verrà approfondito nella discussione.

Le lesioni recidivate localmente appaiono più compatibili con lesioni di nuova insorgenza su campo di cancerizzazione (concetto che verrà trattato nella discussione), piuttosto che con recidiva locale, poiché tutte e quattro piuttosto tardive (tra i 12 ed i 18 mesi dall'asportazione).

2.3.3 Biomarkers

Le lesioni analizzate tramite immunohistochimica presentavano le seguenti caratteristiche:

- Diametro medio 2.15 cm
- grado di differenziazione: 2 ben differenziati, 8 mediamente differenziati, 2 scarsamente differenziati
- Rapporto M/F pari a 4/1
- Età media 82,8 anni
- Sedi: 2 orecchio, 3 fronte, 1 naso, 3 guancia, 3 cuoio capelluto.
- L'espressione di Ki67 nei preparati analizzati variava dal 15% a 90% e correlava molto bene al grado istologico nel modo seguente: G1 (15% - 30%); G2 (30% - 80%); G3 (>80%)
- 3 lesioni su 12 positive per P16 con pattern nucleare e citoplasmatico omogeneo >70% il quale è considerato in letteratura e nella pratica clinica surrogato della ricerca di HPV e marker di neoplasie meno aggressive per SCC di altri distretti

Il follow-up di queste lesioni è stato piuttosto breve, con un media di soli undici mesi circa. Non si sono evidenziati in questo gruppo eventi di rilievo. L'assenza di eventi di rilievo e il corto follow-up non permettono attualmente di valutare l'adeguatezza dell'espressione di queste proteine come marker prognostici, ma a nostro avviso ci presenta un quadro meritevole di interessanti approfondimenti su casistica più ampia evidenziando un sottogruppo con iperespressione omogenea di p16.

Figura 11: ricerca tramite immunistochemica espressione Ki67

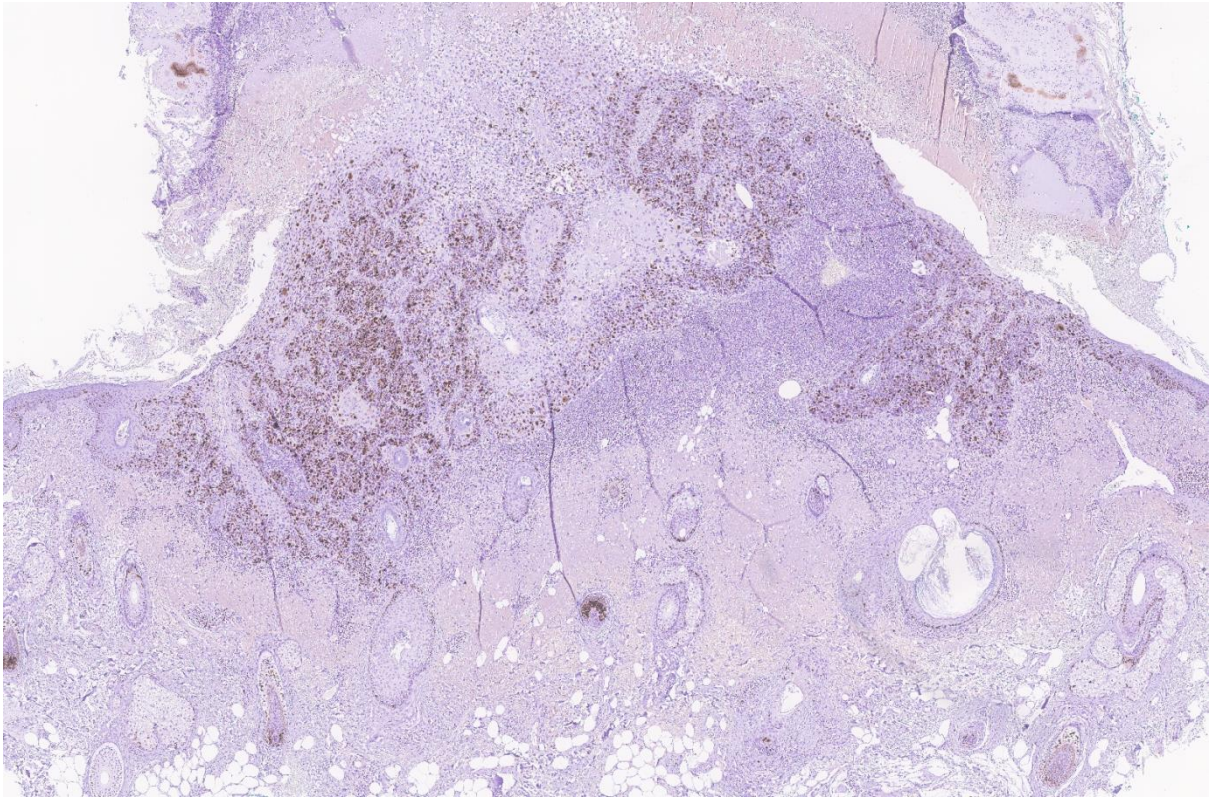
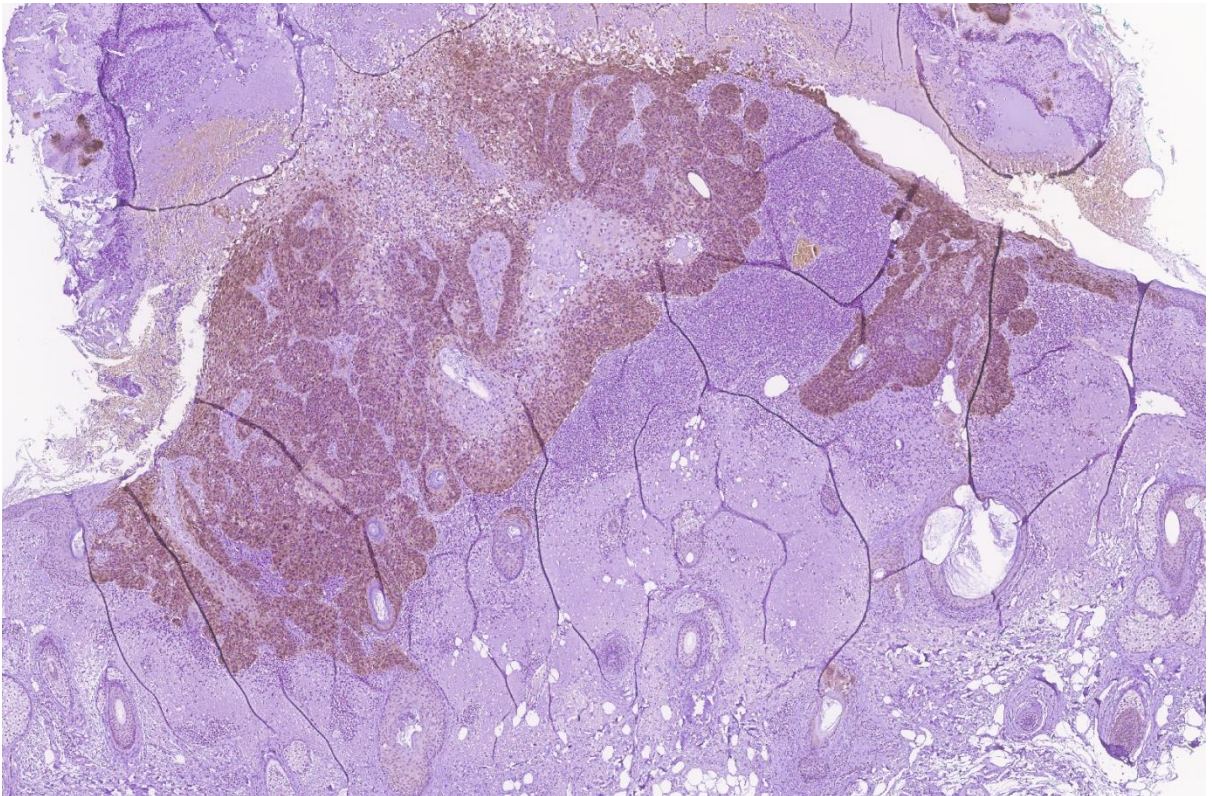


Figura 12: ricerca tramite immunistochemica di espressione p16



2.3 Discussione

È ad oggi noto come nonostante la continua ed aumentata attenzione nella prevenzione dei danni indotti dai raggi solari, i tumori cutanei non melanoma risultino in continua crescita. Negli anni recenti si è notata una aumentata incidenza globale che, a seconda delle regioni, varia dal 3 all'8% rispetto agli anni '60. Alla base di questo aumento dell'incidenza, oltre ai fattori di rischio già indicati, ricordiamo come stia giocando un ruolo fondamentale l'aumento della vita media(29).

I dati sull'incidenza dei tumori non melanoma, infatti, mostrano chiaramente come la fascia attualmente più interessata sia quella degli uomini tra i 75 e gli 84 anni, fascia d'età che fino a 20-30 anni fa era al di sopra di quella che era la speranza di vita media nazionale (Figura 13, Figura 14). Ciò è vero in particolare per gli SCC, la cui frequenza aumenta di molto oltre la settima decade di vita.

Figura 13: distribuzione per età dei NMSC (registri AIRTUM)

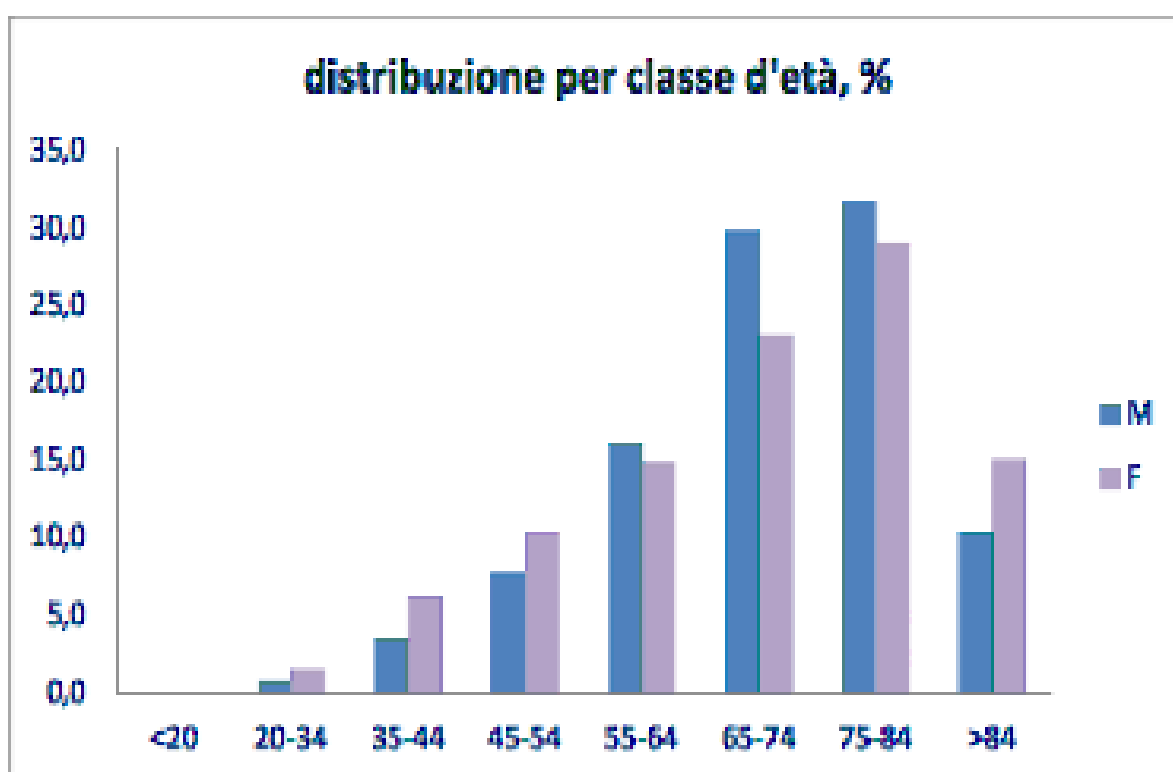
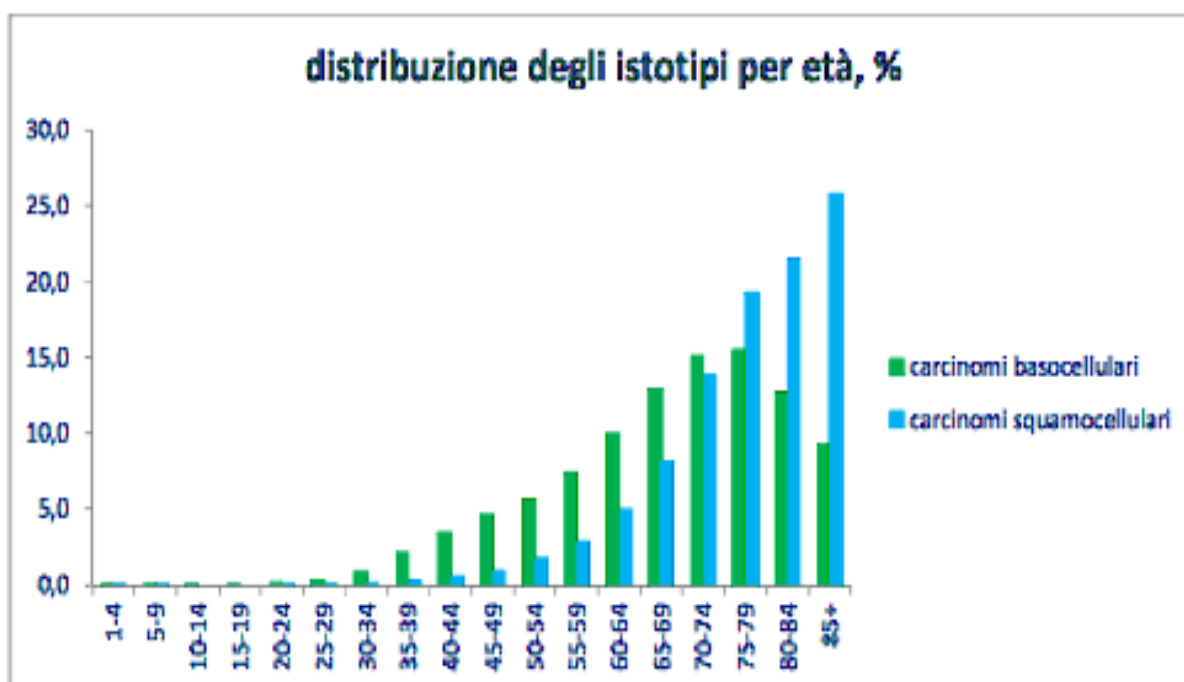


Figura 14: distribuzione degli istotipi dei NMSC per età (registri AIRTUM)



Ci troviamo oggi a doverci confrontare con pazienti che un tempo era molto più raro trattare; pertanto, non è difficile capire per quale motivo attualmente non esistano ancora delle indicazioni terapeutiche standardizzate o come mai queste cambino velocemente negli anni. Altra variabile da tenere in considerazione è rappresentata dal fatto che frequentemente il soggetto anziano propende a minimizzare il problema e a presentarsi quindi dal medico solo quando la lesione è ormai diventata molto evidente.

È opportuno considerare infine come negli anni i tumori cutanei non melanoma siano sempre stati considerati una patologia dallo scarso impatto sulla sopravvivenza del paziente, tanto da optare spesso per trattamenti in cui la lesione viene distrutta tramite agenti fisici (ad esempio con crioterapia o elettrocoagulazione), senza poter quindi avere la certezza della rimozione completa della neoplasia tramite esame istologico. Tale mancanza di conferma può portare a frequenti recidive locali, che è noto essere un importante fattore di rischio per lo sviluppo di neoplasie più invasive.

Nelle aree contigue alla lesione, inoltre, i cheratinociti risultano essere stati esposti nel tempo ad un danno attinico simile a quello della neoplasia stessa, per questo motivo negli ultimi anni si sta sviluppando grande interesse nel trattamento del cosiddetto “campo di cancerizzazione”. Il concetto di campo di cancerizzazione fu introdotto per la prima volta da

Slaughter nel 1953, inizialmente per il carcinoma a cellule squamose del cavo orale. Tale concetto si basava su quattro caratteristiche precise: 1) a livello istologico la neoplasia originava su di un'area con alterazioni precancerose multifocali; 2) il tessuto circostante alla neoplasia mostrava alterazioni a livello istologico; 3) le neoplasie in tali aree tendevano ad essere multifocali e coalescenti; 4) la persistenza di tessuti alterati contigui alla neoplasia può spiegare l'alta percentuale di recidiva locale(30). Al giorno d'oggi questo concetto è stato validato ed applicato a diversi tessuti (cute, mucose del distretto testa e collo, polmoni, vescica, colon, vulva, cervice uterina) e sappiamo che le osservazioni fatte all'epoca si basano su alterazioni genetiche accumulate nel tempo per effetto di un agente mutageno, che nel caso specifico dei cSCC risulta essere la radiazione solare(31).

Questo implica che i pazienti affetti da cSCC risultano essere malati cronici. Come tali, necessitano di visite dermatologiche periodiche allo scopo di poter intervenire quanto prima su lesioni neoplastiche che inevitabilmente nel tempo si presenteranno su di una cute intensamente foto-danneggiata. Ancora di più dal momento che attualmente disponiamo di terapie efficaci sul trattamento del campo di cancerizzazione in modo da trattare anche le lesioni preneoplastiche che non risultano evidenti ad occhio nudo. Le terapie che si sono rivelate efficaci, con una clearance delle lesioni pre-maligne addirittura superiore al 50%, risultano essere: terapia fotodinamica, InegenoloMebutato, 5-floroulaciel topico, Imiquimod e Diclofenac(32). In questo contesto la diagnosi precoce, e quindi la dermatoscopia, risulta di primaria importanza per stabilire il corretto trattamento delle lesioni esaminate.

Per quanto riguarda le caratteristiche dermoscopiche, lo studio in essere non aggiunge novità rispetto ai dati già presenti in letteratura, ma può essere vista come un'ulteriore conferma che si aggiunge a quelle già esistenti. Inoltre, la semplificazione e l'identificazione di caratteristiche di maggiore rilevanza tra tutte quelle in passato analizzate ci permette di semplificare il numero di dati da elaborare ed avere quindi un esame dermoscopico più rapido e meglio adattabile al grande numero di lesioni da valutare ogni giorno in un qualunque ambulatorio di dermatologia. Il nostro consiglio, quindi, è quello di procedere a biopsia o escissione di lesioni che presentano la caratteristica più frequentemente associata alla progressione di ciascun gruppo (vasi a forcina o glomerulari, aree bianche structirless, ulcerazione o erosione) e di rivedere a controllo, o trattare come cheratosi attiniche quelle che non le presentano.

La maggior presenza di *cerchi bianchi* nelle cheratosi attiniche rispetto ai carcinomi a cellule squamose è l'unica notevole differenza rispetto ad alcuni studi in letteratura (20). Tale caratteristica nel nostro studio appare maggiormente associata alle cheratosi attiniche, e qualora presente nei carcinomi squamocellulari relegata alla periferia della lesione che spesso insorge in contesto di cheratosi attinica(l'insorgenza di SCC su cute foto danneggiata circondata da AK è verosimilmente il principale motivo della non significatività statistica di tale dato). Nella nostra casistica, quindi, la presenza di cerchi bianchi, che a livello istologico corrisponde a ipercheratinizzazione del follicolo, essendo più associata ad AK che ad SCC non è da considerare come un fattore di progressione, ma anzi, come un predittore di lesione benigna, ove non presenti altri segni.

La presenza invece di aree biancastre *structurless*(di maggiori dimensioni rispetto ai cerchi), potrebbe corrispondere a livello istologico alla presenza delle “perle cornee“, come già altri studi hanno suggerito(33). Non stupisce quindi che tali strutture, caratteristiche dell'iniziale invasione del derma, sono risultate le più associate alla progressione nel gruppo della distribuzione della cheratina.

Attualmente, non ci sono raccomandazioni definitive sull'impiego di procedure di stadiazione strumentale dopo l'asportazione di un cSCC confermato istologicamente. Come già indicato nell'introduzione le ultime linee guida europee prodotte da un gruppo multidisciplinare seguono la flowchart indicata nella Figura 1. La maggioranza delle lesioni che vengono riscontrate in ambulatorio nel corso della visita ricadono nel gruppo “*common SCC*”. Numerose però risultano essere quelle con associati fattori di rischio EADO, che necessitano quindi di stadiazione e follow-up.

Tali fattori, infatti, riportati nell'introduzione risultano essere molteplici e di tipologie diverse. Primo tra tutti la sede: orecchie, tempie e labbra sono considerate sedi ad alto rischio, ma in considerazione della fotoesposizione cronica tali sedi risultano essere frequentemente interessate. A seguire il dolore nella sede di insorgenza, riportato dal paziente, che può essere considerato segno di invasione perineurale, e, se riportato clinicamente ha lo stesso valore della valutazione istologica, sebbene sia semplicemente un sintomo riferito. Infine, il grande numero di pazienti immunosoppressi che vengono valutati per tumori cutanei amplia notevolmente la platea di lesioni “a rischio”.

A questo riguardo sono presenti diversi studi in letteratura che dimostrano l'inadeguatezza delle attuali indicazioni nel riconoscere accuratamente lesioni ad alto rischio e di stratificarle in base alla prognosi (34).

Peraltro, se andiamo a considerare il numero di cSCC metastatici, che quindi necessitano di imaging risulta essere davvero esiguo: dati di letteratura indicano sempre <5% sul totale. Esistono inoltre studi dove lo spessore tumorale viene considerato come fattore di rischio preponderante, che dimostrano come le metastasi siano assenti se esso è <2mm e comunque poco frequenti se <6 mm a prescindere dagli altri fattori di rischio (35), utilizzando quindi un sistema classificativo simile a quello del melanoma che già utilizziamo quotidianamente con ottimi risultati.

Resasi evidente la necessità di identificare caratteristiche con valore prognostico, negli ultimi anni si è posto interesse alla ricerca di biomarker. Ottimi risultati sono stati ottenuti con la genomica, standardizzando lo studio dell'espressione di 40 geni (40-gep) (36,37). Ma ulteriori studi risultano necessari, e non sappiamo quando tale metodica potrà essere disponibile nella pratica clinica quotidiana, per motivi di disponibilità e costo.

Negli anni passati è stata posta discreta attenzione sulle proteine Ki67 e p16, essendo questi marcatori già utilizzati con successo per gli SCC mucosi come marker indicativo di neoplasia HPV-relata, e risultano quindi facilmente reperibili e poco costosi. I risultati, spesso con una casistica piccola, sono piuttosto discordanti, in particolare la sovraespressione di p16 risulta spesso essere controversa. In alcuni studi, infatti, si è rivelata semplicemente un marker di fotodanneggiamento presente anche su cute sana cronicamente esposta, mentre in altri, marker di neoplasie scarsamente differenziate. (38,39). Come già accennato, l'iperespressione di p16 con pattern nucleare e citoplasmatico omogeneo >70% è considerata in letteratura e nella pratica clinica surrogato della ricerca di HPV e marker di neoplasie meno aggressive per SCC di altri distretti. Nella nostra casistica è evidente la presenza di un sottogruppo con tali caratteristiche, appaiono opportune quindi ulteriori valutazioni con uno studio più ampio per valutare se HPV abbia un ruolo in tali neoplasie, e, soprattutto, se esse abbiano una prognosi diversa dalle altre. Infine, riteniamo utile ottenere un dato più completo di quale sia la percentuale effettiva di lesioni cutanee che iperesprime p16 per la diagnosi differenziale di metastasi linfonodali del distretto testa-collo a primitivo ignoto. Attualmente, infatti, al riscontro di metastasi linfonodale a primitivo ignoto con iperespressione di p16 tale lesione viene ricondotta a carcinoma squamocellulare orofaringeo HPV-relato, con relativa stadiazione e terapia.

Questo tipo di lesioni però ha una prognosi che risulta molto diversa rispetto alle metastasi da cSCC (39), meritano quindi di essere riconosciute e di avere il trattamento più adeguato.

2.4 Conclusioni e sviluppi futuri

- A livello dermoscopico ci sono alcuni segni associati alla progressione da cheratosi attinica a carcinoma squamocellulare ai quali possiamo affidarci per guidare il nostro sospetto diagnostico. In base alla nostra casistica la presenza di uno di questi segni: vascolarizzazione tipica (vasi a forcina o glomerulari), aree bianche structurless o ulcerazione o erosioni è sufficiente a rendere necessaria una biopsia, preferenzialmente escissionale.
- A nostro avviso lo spessore tumorale dovrebbe essere considerato una importante variabile ed inserita nel sistema di stadiazione: nella nostra casistica, infatti, anche lesioni considerate a rischio per la zona di insorgenza hanno dimostrato ottima prognosi con spessori sotto i 2 mm, e non avrebbero necessitato di esami di stadiazione. Ulteriori studi in questa direzione potrebbero ridurre di molto la prescrizione di esami non necessari e il numero di pazienti che richiedono un follow up strumentale.
- In base allo studio preliminare ulteriori valutazioni sull'espressione di Ki67 e p16 appaiono meritevoli di approfondimento. Infatti, Ki67 evidenziando la frazione proliferante correla molto bene con il grado istologico, e potendo darci un valore numerico quantitativo potrebbe avere un valore prognostico importante. Il ruolo di p16 resta ancora da chiarire, ed una casistica più ampia potrebbe essere utile non solo nell'evidenziare un ulteriore biomarker dal valore prognostico, ma anche nel migliorare la nostra capacità di discriminare lesioni morfologicamente simili con diversa espressione di tale proteina, come metastasi linfonodali da SCC a primitivo ignoto.

III. BIBLIOGRAFIA

1. Elder DE, Elenitsas R, Johnson BL, Murphy GF. *Lever's Histopathology of the Skin*. Lippincott Williams & Wilkins; 2009. 121 p.
2. Staples M, Marks R, Giles G. Trends in the incidence of non-melanocytic skin cancer (NMSC) treated in Australia 1985-1995: are primary prevention programs starting to have an effect? *Int J Cancer*. 5 ottobre 1998;78(2):144–8.
3. Rogers HW, Weinstock MA, Feldman SR, Coldiron BM. Incidence Estimate of Nonmelanoma Skin Cancer (Keratinocyte Carcinomas) in the U.S. Population, 2012. *JAMA Dermatol*. ottobre 2015;151(10):1081–6.
4. Que SKT, Zwald FO, Schmults CD. Cutaneous squamous cell carcinoma: Incidence, risk factors, diagnosis, and staging. *J Am Acad Dermatol*. febbraio 2018;78(2):237–47.
5. Karia PS, Han J, Schmults CD. Cutaneous squamous cell carcinoma: estimated incidence of disease, nodal metastasis, and deaths from disease in the United States, 2012. *J Am Acad Dermatol*. giugno 2013;68(6):957–66.
6. Kennedy C, Bajdik CD, Willemze R, De Gruijl FR, Bouwes Bavinck JN, Leiden Skin Cancer Study. The influence of painful sunburns and lifetime sun exposure on the risk of actinic keratoses, seborrheic warts, melanocytic nevi, atypical nevi, and skin cancer. *J Invest Dermatol*. giugno 2003;120(6):1087–93.
7. Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion. *J Invest Dermatol Symp Proc*. aprile 1996;1(2):136–42.
8. Green AC, Olsen CM. Cutaneous squamous cell carcinoma: an epidemiological review. *Br J Dermatol*. agosto 2017;177(2):373–81.
9. Viariso D, Mueller-Decker K, Kloz U, Aengeneyndt B, Kopp-Schneider A, Gröne HJ, et al. 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 Pathog*. luglio 2011;7(7):e1002125.
10. Cheng JY, Li FY, Ko CJ, Colegio OR. Cutaneous Squamous Cell Carcinomas in Solid Organ Transplant Recipients Compared With Immunocompetent Patients. *JAMA Dermatol*. 1 gennaio 2018;154(1):60–6.
11. Cassarino DS, Derienzo DP, Barr RJ. Cutaneous squamous cell carcinoma: a comprehensive clinicopathologic classification. Part one. *J CutanPathol*. marzo 2006;33(3):191–206.
12. Motaparathi K, Kapil JP, Velazquez EF. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: Review of the Eighth Edition of the American Joint Committee on Cancer Staging Guidelines, Prognostic Factors, and Histopathologic Variants. *Adv AnatPathol*. luglio 2017;24(4):171–94.

13. European consensus-based interdisciplinary guideline for invasive cutaneous squamous cell carcinoma. Part 1: Diagnostics and prevention—Update 2023 - *European Journal of Cancer* [Internet]. [citato 23 ottobre 2023]. Disponibile su: [https://www.ejca.com/article/S0959-8049\(23\)00353-2/fulltext](https://www.ejca.com/article/S0959-8049(23)00353-2/fulltext)
14. LINEE GUIDA TUMORI CUTANEI NON MELANOMA | AIOM [Internet]. [citato 23 ottobre 2023]. Disponibile su: <https://www.aiom.it/linee-guida-aiom-2021-tumori-cutanei-non-melanoma/>
15. Veness MJ, Morgan GJ, Palme CE, Gebiski V. 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. *Laryngoscope*. maggio 2005;115(5):870–5.
16. Forsea AM, Tschandl P, Zalaudek I, Del Marmol V, Soyer HP, Eurodermoscopy Working Group, et al. The impact of dermoscopy on melanoma detection in the practice of dermatologists in Europe: results of a pan-European survey. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. luglio 2017;31(7):1148–56.
17. Marghoob AA, Swindle LD, Moricz CZM, Sanchez Negron FA, Slue B, Halpern AC, et al. Instruments and new technologies for the in vivo diagnosis of melanoma. *J Am Acad Dermatol*. novembre 2003;49(5):777–97; quiz 798–9.
18. Zalaudek I, Giacomel J, Schmid K, Bondino S, Rosendahl C, Cavicchini S, et al. Dermoscopy of facial actinic keratosis, intraepidermal carcinoma, and invasive squamous cell carcinoma: a progression model. *J Am Acad Dermatol*. aprile 2012;66(4):589–97.
19. Combalia A, Carrera C. Squamous Cell Carcinoma: An Update on Diagnosis and Treatment. *Dermatol Pract Concept*. luglio 2020;10(3):e2020066.
20. Rosendahl C, Cameron A, Argenziano G, Zalaudek I, Tschandl P, Kittler H. Dermoscopy of squamous cell carcinoma and keratoacanthoma. *Arch Dermatol*. dicembre 2012;148(12):1386–92.
21. Khoury JD, Wang WL, Prieto VG, Medeiros LJ, Kalthor N, Hameed M, et al. Validation of Immunohistochemical Assays for Integral Biomarkers in the NCI-MATCH EAY131 Clinical Trial. *Clin Cancer Res*. 1 febbraio 2018;24(3):521–31.
22. Loghavi S, Al-Ibraheemi A, Zuo Z, Garcia-Manero G, Yabe M, Wang SA, et al. TP53 overexpression is an independent adverse prognostic factor in de novo myelodysplastic syndromes with fibrosis. *Br J Haematol*. ottobre 2015;171(1):91–9.
23. Kurt H, Bueso-Ramos CE, Khoury JD, Routbort MJ, Kanagal-Shamanna R, Patel UV, et al. Characterization of IDH1 p.R132H Mutant Clones Using Mutation-specific Antibody in Myeloid Neoplasms. *Am J Surg Pathol*. maggio 2018;42(5):569–77.
24. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 7 agosto 1975;256(5517):495–7.
25. Sukswai N, Khoury JD. Immunohistochemistry Innovations for Diagnosis and Tissue-Based Biomarker Detection. *Curr Hematol Malig Rep*. ottobre 2019;14(5):368–75.

26. Serra S, Chetty R. p16. *J Clin Pathol.* ottobre 2018;71(10):853–8.
27. Mehanna H, Taberna M, Von Buchwald C, Tous S, Brooks J, Mena M, et al. Prognostic implications of p16 and HPV discordance in oropharyngeal cancer (HNCIG-EPIC-OPC): a multicentre, multinational, individual patient data analysis. *The Lancet Oncology.* marzo 2023;24(3):239–51.
28. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol.* ottobre 1984;133(4):1710–5.
29. Tanese K, Nakamura Y, Hirai I, Funakoshi T. Updates on the Systemic Treatment of Advanced Non-melanoma Skin Cancer. *Front Med (Lausanne).* 2019;6:160.
30. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer.* settembre 1953;6(5):963–8.
31. Braakhuis BJM, Tabor MP, Kummer JA, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter’s concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res.* 15 aprile 2003;63(8):1727–30.
32. Torezan LAR, Festa-Neto C. Cutaneous field cancerization: clinical, histopathological and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol.* 2013;88(5):775–86.
33. Jaimes N, Zalaudek I, Braun RP, Tan BH, Busam KJ, Marghoob AA. Pearls of keratinizing tumors. *Arch Dermatol.* agosto 2012;148(8):976.
34. Puebla-Tornero L, Corchete-Sánchez LA, Conde-Ferreirós A, García-Sancha N, Corchado-Cobos R, Román-Curto C, et al. Performance of Salamanca refinement of the T3-AJCC8 versus the Brigham and Women’s Hospital and Tübingen alternative staging systems for high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol.* aprile 2021;84(4):938–45.
35. Brantsch KD, Meisner C, Schöfnisch B, Trilling B, Wehner-Caroli J, Röcken M, et al. Analysis of risk factors determining prognosis of cutaneous squamous-cell carcinoma: a prospective study. *Lancet Oncol.* agosto 2008;9(8):713–20.
36. Farberg AS, Hall MA, Douglas L, Covington KR, Kurley SJ, Cook RW, et al. Integrating gene expression profiling into NCCN high-risk cutaneous squamous cell carcinoma management recommendations: impact on patient management. *Curr Med Res Opin.* agosto 2020;36(8):1301–7.
37. Litchman GH, Fitzgerald AL, Kurley SJ, Cook RW, Rigel DS. Impact of a prognostic 40-gene expression profiling test on clinical management decisions for high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *Curr Med Res Opin.* agosto 2020;36(8):1295–300.
38. Conscience I, Jovenin N, Coissard C, Lorenzato M, Durlach A, Grange F, et al. P16 is overexpressed in cutaneous carcinomas located on sun-exposed areas. *Eur J Dermatol.* 2006;16(5):518–22.
39. Satgunaseelan L, Chia N, Suh H, Virk S, Ashford B, Lum T, et al. p16 expression in

cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck is not associated with integration of high risk HPV DNA or prognosis. Pathology. agosto 2017;49(5):494–8.