

**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA**

**SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA  
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN MEDICINA E  
CHIRURGIA**

**DIPARTIMENTO DI MEDICINA**

Direttore: Ch.mo Prof. Paolo Simioni

**U.O.C. CLINICA DERMATOLOGICA**

Direttore: Ch.mo Prof. Mauro Salvatore Alessandro Alaibac

**TESI DI LAUREA**

# **Lesioni di Spitz: correlazioni dermatologiche, istologiche e molecolari**

**Relatore**

Ch.mo Prof. Mauro Salvatore Alessandro Alaibac

**Laureando**

Niccolò Romagnolo

**Correlatrice**

Dott.ssa Irene Russo

ANNO ACCADEMICO 2023-2024



# Indice

<b>1</b>	<b>introduzione</b>	<b>5</b>
1.1	Generalità . . . . .	5
1.2	Classificazione nevi melanocitici . . . . .	6
1.2.1	Parametro temporale . . . . .	6
1.2.2	Parametro spaziale . . . . .	6
1.2.3	Parametro clinico . . . . .	7
1.3	Spettro spitzoide . . . . .	8
1.3.1	Definizione . . . . .	8
1.3.2	Storia . . . . .	9
1.4	Nevo Spitz . . . . .	10
1.4.1	Epidemiologia . . . . .	10
1.4.2	Localizzazione . . . . .	11
1.4.3	Dimensioni, forma, colore . . . . .	11
1.4.4	Dermoscopia . . . . .	12
1.4.5	istopatologia . . . . .	13
1.4.6	Diagnosi differenziale . . . . .	14
1.4.7	Varianti nevo di Spitz . . . . .	15
1.5	Tumore Spitz atipico.....	20
1.5.1	Epidemiologia.....	20
1.5.2	Dimensioni, forma, colore.....	21
1.5.3	Dermoscopia.....	21
1.5.4	istopatologia AST.....	23
1.6	Nuove frontiere diagnostiche.....	25
1.6.1	Immunoistochimica.....	25
1.6.2	Array CGH.....	27
1.6.3	FISH.....	27
1.6.4	Next Generation Sequencing.....	28
1.7	Biologia molecolare spitzoide.....	29

1.7.1	HRAS.....	30
1.7.2	ALK.....	31
1.7.3	ROS .....	33
1.7.4	NTRK .....	34
1.7.5	RET, TEM, MAP3K8, MAP2K1, BRAF.....	35
1.8	Gestione clinica .....	38
<b>2</b>	<b>Obiettivi dello studio</b>	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>Materiali e Metodi</b>	<b>41</b>
3.1	Raccolta dei dati .....	41
3.2	Analisi statistica.....	43
<b>4</b>	<b>Risultati</b>	<b>45</b>
4.1	Caratteristiche demografiche.....	45
4.2	Caratteristiche cliniche macroscopiche .....	46
4.3	Caratteristiche dermatoscopiche.....	46
4.4	Caratteristiche istopatologiche .....	48
4.5	Matrici di correlazione .....	50
<b>5</b>	<b>Discussione</b>	<b>57</b>
5.1	Punti di forza e limiti dello studio .....	62
<b>6</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>65</b>

# Sommario

## Introduzione

Le lesioni spitzoidi sono un'ampia classe di lesioni melanocitiche, non così infrequenti, che comprende il nevo di Spitz (SN), il tumore di Spitz atipico (AST) e il melanoma Spitzoide (SM). Poichè queste lesioni presentano una notevole somiglianza clinica, è molto importante prevederne il comportamento biologico, soprattutto attraverso l'istopatologia. La gestione nella pratica clinica quotidiana è spesso difficoltosa e necessita di approcci integrativi con tecniche di biologia molecolare. La diagnosi delle lesioni spitzoidi rappresenta ancora oggi una sfida per molti dermatologi, ma anche per dermatologi più esperti. Tuttavia, negli ultimi decenni, è cresciuta la volontà di definire items diagnostici che possano aiutare i medici a riconoscere queste lesioni e a sospettare la loro malignità. Un appropriato sospetto è cruciale per allertare i patologi e guidarli verso una diagnosi corretta.

## Scopo dello studio

Lo scopo dello studio consiste nel valutare la presenza di specifici pattern clinici macroscopici e dermatoscopici sia in lesioni spitzoidi benigne sia in lesioni a potenziale maligno incerto (AST) per poi confrontarle con i corrispettivi esami istologici. In particolare, l'obiettivo è quello di fornire al clinico degli strumenti che permettano già di caratterizzare al meglio queste lesioni, di indirizzare la diagnosi istologica e predire l'outcome del paziente e la conseguente gestione clinico-terapeutica.

## Materiali e metodi

Il lavoro presentato è uno studio retrospettivo di coorte che comprende 86 pazienti, tutti con età  $\geq 13$  anni, che hanno ricevuto diagnosi di nevo di Spitz (n=57) o di tumore Spitz atipico (n=29) nel periodo tra il 2013 e il 2023 presso l'UOC Melanomi

e Sarcomi dell'Istituto Oncologico Veneto (IOV) e l'Azienda Ospedaliera di Padova (AOPD).

## Risultati

Sono state analizzate 4 tipologie di caratteristiche: demografiche, clinico macroscopiche, dermoscopiche ed istologiche. E' stata osservata una maggiore frequenza di lesioni spitzoidi in soggetti di sesso femminile, soprattutto in età fertile. La sede anatomica più comune è stata rappresentata dagli arti inferiori sia per SN sia per AST. Dal punto di vista clinico-macroscopico, i nevi di Spitz sono stati classificati prevalentemente come lesioni maculari (73.7%), mentre gli AST come papulari (69.0%). Non sono state riscontrate significative differenze in termini di dimensioni delle lesioni. La pigmentazione è stata evidenziata nella maggior parte delle lesioni sia SN sia AST. Dal punto di vista dermoscopic, la presenza di un pattern di Spitz è stata riscontrata nel (63.2%) negli SN e nel (34.5%) negli AST. Nello specifico i patterns spitzoidi più frequentemente riscontrati sono stati in ordine lo starburst, multicomponent, globular ed il reticular depigmentation, mentre il pattern dotted e homogeneous risultavano essere poco rappresentati. Per quanto riguarda i patterns dermoscopic d'atipia è stato evidenziato come la loro presenza correlasse maggiormente ad AST rispetto SN, con significatività statistica, ad eccezione del pattern "structureless", che è stato il più rappresentato in entrambe le lesioni. Non significative differenze in termini di colore alla dermatoscopia sono state evidenziate. Non state evidenziate correlazioni statisticamente significative tra i parametri dermoscopic e quelli istologici.

## Conclusioni

I risultati da noi ottenuti hanno confermato la difficoltà nella diagnosi differenziale di queste lesioni. Secondo la nostra esperienza, la presenza di specifici pattern clinico/dermoscopic sono utili per orientare il clinico sulla tipologia della lesione e la conseguente presa in carico del paziente. Ad oggi, l'analisi istologica rimane il gold standard per la diagnosi di queste lesioni e l'utilizzo delle tecniche di analisi molecolare permette un'ulteriore caratterizzazione delle lesioni. In futuro, la raccolta di ulteriori dati, sia istologici che molecolari, permetterà di definire più precisamente eventuali correlazioni clinico/istologiche, che sono già emerse nella nostra analisi, ma che devono essere riconfermate da una casistica più ampia e più completa.

# Abstract

## Background

Spitzoid lesions are a broad class of melanocytic lesions, not so infrequent, which includes Spitz nevus (SN), atypical Spitz tumor (AST), and Spitzoid melanoma (SM). Because these lesions have remarkable clinical similarity, it is very important to predict their biological behavior, especially through histopathology. Management in daily clinical practice is often difficult and requires integrative approaches with molecular biology techniques. The diagnosis of spitzoid lesions is still a challenge for many dermatologists, but also for more experienced dermpathologists. However, in recent decades, there has been a growing desire to define diagnostic items that can help physicians recognize these lesions and suspect their malignancy. Appropriate suspicion is crucial in alerting pathologists and guiding them to a correct diagnosis.

## Objective

The aim of the study is to evaluate the presence of specific macroscopic and dermatoscopic clinical patterns in both benign spitzoid lesions and lesions of uncertain malignant potential (AST) and then compare them with corresponding histological examinations. Specifically, the aim is to provide the clinicians with tools that will already allow them to better characterize this lesion, direct the histological diagnosis, and predict the patient's outcome and subsequent clinical-therapeutic management.

## Methods

The work presented is a retrospective cohort study including 86 patients, all aged  $\geq 13$  years, who were diagnosed with Spitz nevus (n=57) or atypical Spitz tumor (n=27) during the period between 2013 and 2023 at the UOC Melanomas and Sarco-

mas of the Istituto Oncologico Veneto (IOV) and the Azienda Ospedaliera di Padova (AOPD).

## Results

4 types of features were analyzed: demographic, clinical macroscopic, dermoscopic, and histologic. A higher frequency of spitzoid lesions was observed in female subjects, especially of childbearing age. The most common anatomical site was the lower limbs for both SN and AST. Clinico-macroscopically, Spitz nevi were predominantly classified as macular lesions (73.7%), while ASTs as papular (69.0%). No significant differences were found in terms of lesion size. Pigmentation was evidenced in the majority of both SN and AST lesions. Dermatoscopically, the presence of a Spitz pattern was found in (63.2%) in SNs and (34.5%) in ASTs. Specifically, the most frequently found Spitzoid patterns were in order starburst, multicomponent, globular and reticular depigmentation, while dotted and homogeneous pattern appeared to be underrepresented. Regarding dermatoscopic patterns of atypia, it was shown that their presence correlated more with AST than SN, with statistical significance, except for the "structureless" pattern, which was the most represented in both lesions. No significant differences in color at dermoscopy were shown. No statistically significant correlations were shown between dermatoscopic and histological parameters.

## Conclusions

Our results confirmed the difficulty in the differential diagnosis of these lesions. In our experience, the presence of specific clinical/dermatoscopic patterns are useful in guiding the clinician on the type of lesion and subsequent patient care. To date, histologic analysis remains the gold standard for the diagnosis of these lesions, and the use of molecular analysis techniques allows further characterization of the lesions. In the future, the collection of additional data, both histologic and molecular, will allow for a more precise definition of any clinical/histologic correlations, which have already emerged in our analysis but need to be reconfirmed by a larger and more complete case series.



# Capitolo 1

## introduzione

### 1.1 Generalità

La melanina è una macromolecola derivata da chinoni e fenoli, ampiamente diffusa nella natura. Oltre alla sua funzione primaria di pigmentazione, svolge un ruolo chiave in molteplici processi biologici nel corpo umano. Tra queste, la melanina agisce come un efficace antiossidante, contrastando i danni causati dai radicali liberi. La sua capacità di assorbire e dissipare l'energia luminosa la rende fondamentale per la fotoprotezione della pelle. Inoltre, la melanina è coinvolta nella chelazione di ioni metallici, contribuendo alla detossificazione e alla regolazione del bilancio ionico. Infine, presenta un ruolo nella termoregolazione e potenzialmente nella trasmissione dei segnali neurali (1)(2)

I melanociti sono un gruppo eterogeneo di cellule specializzate nel corpo umano. Originano dalle cellule della cresta neurale. La loro funzione non è isolata alla sola sintesi della melanina, ma sono presenti funzioni specifiche in base alla loro sede(3). Non si localizzano solo nell'epidermide, a livello dello strato basale dell'epidermide e nel bulbo pilifero, e nei capelli, dove danno colore a queste strutture, ma anche nell'orecchio interno, nel sistema nervoso, nel cuore e probabilmente la lista non si conclude qui(4)(5). Non solo i melanociti devono essere in grado di produrre melanina, ma anche altre cellule come l'epitelio pigmentato della retina, alla base dell'iride, neuroni, adipociti(6)(7).

I nevi sono lesioni visibili, circoscritte e di lunga durata della pelle o della mucosa vicina, che riflettono un mosaicismo genetico. In particolar modo, i nevi melanocitici, sono lesioni cutanee relativamente comuni che si verificano a seguito dell'accumulo

di melanociti(8).

La controparte maligna di queste lesioni è il melanoma cutaneo(9). Negli ultimi 50 anni, la sua incidenza nei paesi sviluppati è aumentata più rapidamente di qualsiasi altro tipo di cancro. Un tempo era un tumore raro, ma l'incidenza è quasi raddoppiata tra gli anni '30 e '70, per poi rallentare fino all'attuale tasso del 5%/anno negli ultimi 30 anni(10). Solamente il 10%-20% dei melanomi è associato a nevi, il che suggerisce come la grande maggioranza dei melanomi non deriva da essi. I fattori genetici giocano un ruolo dominante nel rischio di melanoma. Oltre alla pigmentazione della pelle (bianca caucasica), altri fattori di rischio includono l'anamnesi familiare di melanoma, la densità e il tipo di nevi. Infine anche l'esposizione solare, quella nel breve periodo ad alta intensità della pelle non abbronzata al sole, definibile dalla caratteristica "scottatura solare"(11).

## **1.2 Classificazione nevi melanocitici**

### **1.2.1 Parametro temporale**

- Congenito: presente fin dalla nascita;
- Acquisito: dopo la nascita, nel corso della vita;

### **1.2.2 Parametro spaziale**

A seconda del luogo in cui ha origine il processo proliferativo che porta alla comparsa della lesione

- Giunzionale: a livello della giunzione dermo-epidermica. Generalmente presentano una forma rotondeggiante, superficie piana e assumono una colorazione marrone o nerastra. Sono più frequenti nell'infanzia. Possono evolvere in rilievo oppure regredire;
- intradermico: a livello del derma, quindi, al di sotto dell'epidermide. La colorazione varia dal rosa carne al marrone chiaro e si manifestano in particolare durante l'età adulta;
- composto: caratteristiche miste fra la forma giunzionale e quella intradermica;

### 1.2.3 Parametro clinico

- Nevo di Clark: noto anche come nevo melanocitico comune acquisito. Quello maggiormente diffuso. Si presenta generalmente come una lesione piatta;
- Nevo di Clark atipico: noto anche come nevo melanocitico atipico acquisito. Presenta un diametro generalmente più elevato (superiore ai 6 mm), margini irregolari e colore non omogeneo. È considerato come una lesione ad elevato rischio di evolvere in una forma maligna;
- Nevo di Unna: assume forma polipoide di consistenza molle;
- Nevo di Miescher: a lenta evoluzione, cupoliforme, con la colorazione che può essere bruna oppure color carne;
- Nevo di Sutton: si caratterizza per la presenza di un'area di cute ipopigmentata che circonda il nevo vero e proprio, solitamente di colore rossastro, oppure marrone;
- Nevo Blu: tipica colorazione blu-grigiastra o blu-nerastra, dovuto alla profondità della lesione;
- Nevo di Meyerson: si caratterizza per essere circondato da un'area eczematosa con tendenza a desquamarsi;
- Nevo di Ota: caratterizzato colore bluastrato con sfumature nerastre. Può manifestarsi sia sulla cute che sulle mucose. Si localizza soprattutto a livello del volto. Una lesione analoga è il nevo di Ito, il quale tende a localizzarsi a livello della parte superiore della spalla;
- Nevo di Becker: si presenta come una lesione dai margini irregolari con colorazione bruna e presenza di numerosi peli al suo interno;
- Macchia Mongolica: può essere considerato come nevo congenito, seppur più propriamente venga definito come "melanocitosi dermica congenita lombosacrale". La colorazione bluastra non deve far confondere con il nevo di Ota, Ito o con il nevo blu. Presenta margini irregolari e può superare i 10 cm di diametro;
- Nevo melanocitico congenito gigante: le dimensioni superano i 20 cm. Incidenza è bassa, ma si associa ad un elevato rischio di evoluzione a melanoma;

- Nevo di Spitz: è un nevo melanocitico avente forma simmetrica a cupola, la cui colorazione omogenea può variare dal rosa-rossastro al bruno-marrone. Si tratta di un nevo che compare tipicamente in età pediatrica.

## 1.3 Spettro spitzoide

### 1.3.1 Definizione



Figura 1.1: la difficoltà diagnostica sia a livello macroscopico sia microscopico di un tumore Spitz atipico (A)(B) rispetto ad un nevo di Spitz (C)(D).(12)

Le lesioni spitzoidi sono un'ampia classe di tumori che comprende il nevo di Spitz (SN), il tumore di Spitz atipico (AST) e il melanoma Spitzoide (SM). Poiché queste lesioni presentano una notevole somiglianza clinica, è molto importante prevederne il comportamento biologico, soprattutto attraverso istopatologia(13)(14). Le lesioni spitzoidi sono tutte istologicamente caratterizzate da cellule del fuso e proliferazioni melanocitiche a cellule epitelioidi, ma mentre SN mostra caratteristiche istologiche benigne e SM mostra caratteristiche istologiche maligne, l'AST presenta alcune caratteristiche istologiche atipiche intermedie tra SN e SM, ma insufficienti per fare una diagnosi di melanoma (15). La stragrande maggioranza di queste lesioni spitzoidi non sembrano recidivare o metastatizzare, per cui sono state raggruppate come nevi melanocitici benigni, anche se una certa percentuale di lesioni sembra impossibile da distinguere dal melanoma. Così, il termine "nevo di Spitz" è diventato saldamente radicato nella letteratura medica, ma non è né razionale né pratico ed è potenzialmente dannoso per i pazienti e medici etichettare in modo prospettico praticamente tutte le lesioni spitzoidi come nevi e quindi dover rimediare alla questione in un secondo momento. Viene suggerito, invece, l'utilizzo del termine "tumore di Spitz tipico" per descrivere queste forme(16). Il termine "tumore

Spitz atipico” non è stato ancora chiaramente definito: la motivazione verte sul fatto che sia tale terminologia può essere usata per quelle lesioni difficili da inquadrare nelle altre due classi sia può descrivere una lesione intermedia, derivata dalla progressione dal nevo ad un vero e proprio melanoma(16). La figura 1.1 esprime al meglio la difficoltà nella valutazione clinica e dermoscópica di queste lesioni.

### **1.3.2 Storia**

Il termine ”spitzoide” fa riferimento al patologo, che primo descrisse queste lesioni nel 1948, il quale inizialmente le descrisse come ”melanoma giovanile” per poi osservare come nella maggioranza dei casi, l’andamento fosse benigno(17). Quest’osservazione ha suscitato un maggiore interesse per queste lesioni, segnando l’importanza di distinguerle dal melanoma e quindi evitando il trattamento eccessivo in questi giovani pazienti. Osservazioni successive di queste lesioni negli adulti hanno spostato il concetto di nevi di Spitz oltre le lesioni puramente pediatriche (18). Successivamente, l’esperienza cumulativa ha permesso la descrizione della morfologia dei melanociti e dei melanociti delle cellule del fuso come caratteristica distinta di queste lesioni, gettando il terreno per un più ampio riconoscimento di queste lesioni nella pratica quotidiana da parte dei patologi a livello globale(19). La terminologia e la designazione di “Atypical Spitz Nevus”, sono emerse più recentemente, negli anni ’90(20)(21). Con la scoperta delle mutazioni BRAF nei tumori, come nel melanoma, è stato riscontrato che il nevo di Spitz non contiene in realtà le mutazioni BRAF, segnando un’importante distinzione di questi tumori con altre lesioni melanocitiche(22)(23)(24). Successivamente si è scoperto che le fusioni e traslocazioni della chinasi si trovano comunemente in tutto lo spettro spitzoide. Sono state descritte fusioni e traslocazioni in-frame delle chinasi di ROS1, NTRK1, NTRK3, ALK, BRAF e RET(25). Lo sforzo per trovare ulteriori difetti molecolari continua, poiché circa il 20-50% delle lesioni spitzoidi rimane senza mutazioni genetiche note(26)(27). Più di recente, le traslocazioni MAP3K8 sono state identificate come un ulteriore driver genetico(28).

## **1.4 Nevo Spitz**

### **1.4.1 Epidemiologia**

L’epidemiologia degli SN è difficile da eseguire e i dati a disposizione sono pochi. Sicuramente le correlazioni tra la morfologia delle lesioni con i driver oncologici

genetici recentemente caratterizzati possono aiutare ad identificare queste lesioni, facilitando l'accuratezza dei futuri studi epidemiologici(29). Come stima generale, l'1-2% di tutti i nevi rimossi sia dai bambini che dagli adulti viene diagnosticato come nevi di Spitz(30). Da diversi studi l'incidenza oscilla complessivamente da 1,4 a 7 casi per 100.000 persone all'anno e si sviluppano tipicamente in età pediatrica/giovani adulti, seppur tutte le fasce di età possono essere influenzate. Quasi il 40% dei nevi di Spitz appaiono prima dei quindici anni, il 77% appare prima dei trent'anni, mentre negli individui più anziani, la presenza di queste lesioni è abbastanza rara(31)(32)(33). Uno studio italiano della durata di 10 anni dal 1991 al 2001, ha pubblicato un'incidenza di 10:100.000 individui nella regione Emilia-Romagna(34)

Gli SN si presentano in tutte le etnie e in analogia modalità in entrambi i sessi, anche se la maggior parte dei casi sono stati riportati in pazienti bianchi(21)(35)(36)(37). Data la rarità delle diagnosi di nevi di Spitz in pazienti non bianchi e della potenziale sottodiagnosi in questa particolare popolazione, la caratterizzazione dei nevi di Spitz nella pelle di colore è limitata (38). Un'analisi di 130 casi SN in una popolazione ispanica, ha rilevato che gli ispanici possono avere una pigmentazione più pesante, che appare con papule pigmentate piuttosto che rosa / rossa, mentre dal punto di vista istopatologico vi è una frequenza inferiore di corpi di Kamino e cellule giganti multinucleate. Un'altra serie di casi ha analizzato 11 casi lesioni spitzoidi in una popolazione afroamericana, identificando una maggiore prevalenza nelle femmine (82%), iperpigmentazione (73%) e maggiore frequenza di diffusione pagetoide (55%) rispetto ad una popolazione bianca. Questi studi presentano limitazioni date dalla dimensione delle popolazioni relativamente piccole (38). Tuttavia, data l'importanza di distinguere le lesioni spitzoidi benigne rispetto a quelle maligne, in associazione con il problema generale di interpretazione errata o diagnosi ritardate nei pazienti con pelle più scura, i medici devono essere consapevoli di queste potenziali differenze(39).

#### **1.4.2 Localizzazione**

Il nevo di Spitz può localizzarsi in qualsiasi parte del corpo. Gli arti inferiori tendono a essere il sito di insorgenza più comune seguito dal tronco o dagli estremità superiori, mentre testa-collo risultano essere le sedi meno colpite nell'adulto(35)(36)(37). Uno studio che ha confrontato 110 casi di SN con 55 AST ha registrato: che per gli SN, il 47,3% è stato localizzato a livello delle estremità inferiori, il 20% sull'estre-

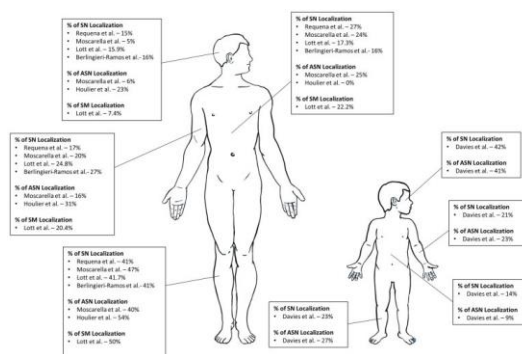


Figura 1.2: Sedi tipiche SN, AST e SM (40)

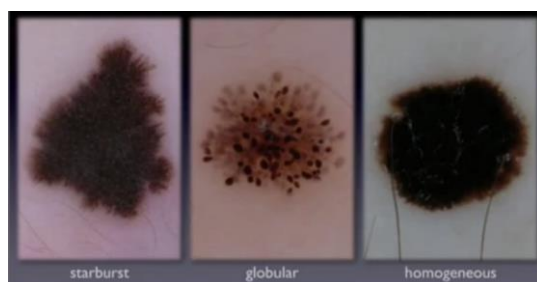
mità superiore, il 19,9% sull tronco ed il 4,5% a livello del distretto testa/collo(41). Alcuni studi su popolazioni esclusivamente pediatriche hanno osservato una maggiore incidenza di SN situati nella testa e nel collo(15). In un recente studio, il 41,97% dei 243 casi SN, sono stati biopsiati dalla testa e dal collo(42). I seguenti studi sono riportati nella figura 1.2.

### 1.4.3 Dimensioni, forma, colore

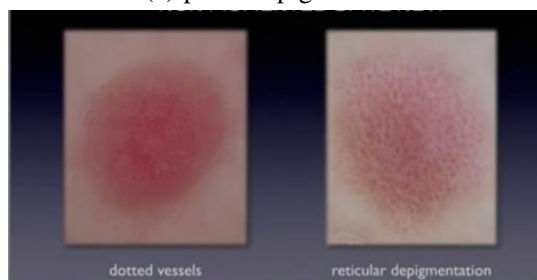
Il nevo di Spitz appare generalmente come papula a forma di cupola singola, piatta o polipoide, con colore che varia dal rosato al rosso, a causa dell'elevata vascolarizzazione e del basso contenuto di melanina. Quasi il 10% delle lesioni sono pigmentate con colore marrone. Le lesioni possono raggiungere dimensioni fino a 1/2 cm, anche se generalmente misurano dai 5/6 mm. Dopo la loro rapida crescita, le lesioni possono rimanere stabili per anni e successivamente possono mostrare una progressiva acquisizione di un aspetto melaninico comune o verso la completa involuzione.(21)(37)(34)(43).

### 1.4.4 Dermoscopia

Nel 1992, Steiner e colleghi hanno scoperto che la dermoscopia ha migliorato la diagnosi dei nevi di Spitz pigmentati dal 56% al 93%(44). Col tempo essa si è evoluta e il suo uso nella diagnosi di queste lesioni è ora pratica comune tra i dermatologi(45). Da un punto di vista morfologico, un modello benigno tipicamente presuppone una disposizione simmetrica dei colori e delle strutture. Al contrario, le stesse strutture dermoscopiche, quando sono distribuite in modo asimmetrico, rappresentano criteri più specifici per melanoma. Per esempio, le striature periferiche o i globuli distribuiti in maniera asimmetrica sono considerati caratteristiche suggestive di melanoma e sono spesso combinati tra loro, formando il cosiddetto "pattern



(a) pattern pigmentato



(b) pattern apigmentato

Figura 1.3: Pattern dermoscopic spitzoidi  
(41)

multicomponente”. Sebbene quest’ultimo modello sia generalmente suggestivo di melanoma, lo possiamo osservare anche in qualche nevo di Spitz. In questo caso è impossibile da differenziare dal melanoma (46). Queste lesioni sono tipicamente classificate in diversi modelli dermoscopic: starburst, globular, homogeneous, reticular depigmentation e dotted vessels(41)(47), come è visibile dalla figura 1.3. Il pattern starburst è costituito da una zona pigmentata blu-nera centrale circondata da striature o grandi globuli che si estendono in modo simmetrico e radiale alla periferia. Quello globular è costituito da numerose strutture rotonde/ovalari marroni o grigie-neri di dimensioni variabili che coinvolgono la maggior parte della lesione. Il pattern ”dotted vessels” presenta vasi punteggiati e monomorfi, distribuiti regolarmente su uno sfondo rosato rispetto a quello homogeneous, in cui la pigmentazione omogenea occupa la maggior parte della lesione. Il reticular depigmentation consiste in linee intersecanti che circondano i globuli o i vasi pigmentati. Infine il modello multicomponente è dove due o più dei modelli sopra elencati sono osservati in una singola lesione(41)(47). La maggior parte dei nevi di Spitz mostra un pattern starburst(41)(48). Le frequenze riguardanti gli altri modelli sono meno coerenti tra gli studi, tuttavia il pattern del dotted vessels e globular, risultano essere i successivi modelli dermoscopic più frequenti osservati(47). Da un’analisi di 896 pazienti con nevi di Spitz. L’età media era di 27 anni e il rapporto maschi/femmine era di 1 : 1. Il pattern starburst è stato osservato 50,6%), seguito dal pattern dotted



vessels 19,3%) e dal pattern globular 17%). Infine, un pattern multicomponente/tipico ha caratterizzato il 9%) delle lesioni spitzoidi. Non è stata riscontrata alcuna correlazione significativa tra l'età o il sesso e il pattern dermatoscopico(47).

### 1.4.5 istopatologia

La maggior parte degli SN viene ancora diagnosticata da un esame istopatologico di ematosilina ed eosina. I risultati che vengono tipicamente valutati includono la simmetria, la circoscrizione, l'ulcerazione, il sottotipo istopatologico, i nidi epiteliodi, spindle cells, la diffusione pagetoide, i corpi di Kamino, la maturazione dei melanociti, l'attività mitotica, la pigmentazione, l'infiltrazione infiammatoria linfocitaria e la multinucleazione(35)(49)(50)(51). La maturazione è tipicamente definita come la progressiva diminuzione della dimensione cellulare verso la base della lesione. I corpi di Kamino sono opachi globuli rosa/eosinofili, PAS e tricomi positivi, presenti nell'epidermide e derma papillare(52). Il nevo di Spitz può essere diviso in tre sottotipi istopatologici: composto, giunzionale e intradermico, basandosi su criteri di localizzazione dei melanociti. Il composto tende ad essere il sottotipo più comune e contiene sia elementi giunzionali che intradermici(37)(53). Le spindle cells e quelle epiteliodi, si trovano di solito in collezioni di nidi a livello della giunzione dermo-epidermica, tipicamente orientate perpendicolarmente all'epidermide, in una configurazione descritta come "raining down"(54)(55). Altre comuni caratteristiche istopatologiche sono l'iperplasia epidermica e i corpi di Kamino, situati alla periferia dei nidi melanocitici all'interno dell'epidermide(52). Sebbene i corpi di Kamino siano un'importante caratteristica diagnostica distintiva degli SN, non si trovano necessariamente sempre. In letteratura, la rilevazione dei corpi di Kamino nelle lesioni SN varia dall'11% al 67% delle lesioni spitzoidi(36)(56). La presenza di infiltrati infiammatori linfocitari e la pigmentazione sono abbastanza comuni, come la stessa maturazione(56)(32). L'ulcerazione e l'attività mitotica anormale sono rare negli SN rispetto agli AST e SM (56)(57). La diffusione pagetoide è anch'essa relativamente rara, tipicamente focale, che coinvolge l'epidermide inferiore, situata al centro della lesione, e spesso presente come cluster di cellule piuttosto che singole cellule (36)(51). La dottoressa Spitz ha descritto cellule giganti multinucleate o mononucleate nello strato basale dell'epidermide e del derma superficiale, affermando che fossero una caratteristica distintiva che separa SN dal SM (17). Nonostante ciò, diversi studi riportano la presenza di queste cellule giganti in circa il 30% delle lesioni (36)(51).

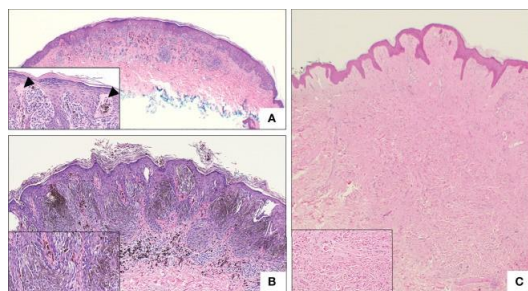


Figura 1.4: Immagini di istopatologia di un nevo di Spitz.(A) Nevo composto con caratteristica simmetria e circoscrizione della lesione. Si evidenziano spindle cells ed epitelioidi. Allo zoom, si notano nidi giunzionali agganciati all'epidermide, oltre che corpi di Kamino prominenti, segnalati dalla freccia.(B) Nevo di Reed con caratteristica pigmentazione accentuata.(C) nevo desmoplastico con scomparsa della cresta dermica e proliferazione melanocitarie esclusivamente intradermica, distribuiti tra i fasci di collagene spessi(40)

#### 1.4.6 Diagnosi differenziale

Queste lesioni condividono caratteristiche cliniche, come dimensioni, posizione e colore, con altre lesioni cutanee. Un esempio sono le lesioni melanocitiche come il nevo melanocitico congenito, nevo atipico, nevo blu e nevo di Clark(36)(58)(59). Poiché SN si presenta comunemente con colorazione rosa/rossa, anche le lesioni vascolari sono incluse nella diagnosi differenziale come gli emangiomi, granuloma piogenico e angiofibroma. Altre lesioni con somiglianza morfologica con lesioni spitzoidi includono il dermatofibroma, il basalioma e le cheratosi seborroiche(35)(36)(60). Dal punto di vista istopatologico la diagnosi differenziale può essere suddivisa sulla base che siano lesioni melanocitiche o non-melanocitiche. Le caratteristiche comuni condivise tra SN e altre lesioni melanocitiche sono la maturazione, la simmetria, la distribuzione regolare dei melanociti individualmente o nei nidi(24)(61)(55). Altre lesioni mostrano la morfologia delle cellule epitelioidi o spindle cells, come ad esempio l'istocitoma fibroso epitelioido, il quale presenta anche un abbondante citoplasma eosinofilo e figure mitotiche sparse(61). Alcune lesioni non-melanocitiche, come l'exmammary Paget, il melanoacanthoma o la malattia di Bowen, possono dimostrare nidi pseudo-melanocitici ed aumento dei melanociti che portano a potenziali diagnosi errate(62).

#### 1.4.7 Varianti nevo di Spitz

- Nevo di Reed: descritto dall'omonimo dermatologo nel 1975(63) ed attualmente considerata come variante SN dalla Classificazione dell'OMS 2018.



Figura 1.5: nevo di Reed, macroscopicamente e microscopicamente(12)

Si localizzano generalmente a livello degli arti inferiori e prediligono il sesso femminile(64)(65). Clinicamente sono papule o noduli ben circoscritti e simmetrici con colorazione marrone scuro o nero. Dermoscopicamente si presenta con uno schema a starburst, che in seguito può evolversi e stabilizzarsi in un modello omogeneo. Una rete nera superficiale, con un aspetto reticolare, dovuta all'aumento della melanina in queste lesioni, è un'altra caratteristica dermoscopia comune(66)(67). Istologicamente, a differenza del classico nevo di Spitz, è caratterizzato da cellule a forma di fuso, uniformi, orientate verticalmente o concentriche (64)(65). I corpi di Kamino non sono particolarmente rappresentati. Inoltre, presenta un basso conteggio mitotico, meno uniformità del nido di infiammazione linfocitaria, iperplasia e pigmentazione più epidermica, moderata fino ad una marcata melanofagia (68). Esistono anche varianti dello stesso Reed, come la sua forma atipica, che presenta caratteristiche più a carattere maligno (asimmetria, scarsa circoscrizione, aumento dell'infiammazione linfocitaria, ulcerazione, attività mitotica anormale e altre atipia citologiche)(67)(69). Si faccia riferimento alla Figura (B) 1.4. ;

- Polipoide: è una variante rara di SN che mostra lesioni peduncolate con cellule epitelioidi atipiche con nuclei di grandi dimensioni e nucleoli prominenti (70)(71). A differenza del melanoma polipoide, questo è tipicamente monomorfo, negativo per copie cromosomiche aberranti e le figure mitotiche sono molto più difficili da rilevare. Inoltre dimostra anche una componente mesenchimale con aumento del collagene stromale, simile alla variante desmoplastica. Recentemente è stato riportato un caso di AST polipoide(72);
- Agminato: sono eruzioni di SN convenzionali multipli. Sono state descritte 3 tipologie: "su pelle normale", "macule ipopigmentate" e "macule iperpigmentate congenite", in particolare quella che sorge sulla pelle iperpigmentata, è più comune ed è associato ai bambini(73)(74)(75);

- **Pagetoide:** è caratterizzato da una distribuzione di melanociti epitelioidi tipici situati nello strato spinoso della lesione. I melanociti sono distribuiti individualmente. Melanodermia, iperplasia epidermica, corpi eosinofili possono essere individuati. Clinicamente, sono piccole con diametro <6mm, simmetriche, ben circoscritte e tipicamente situate a livello dell'estremità. Il melanoma in situ entra in diagnosi differenziale con queste lesioni. Tuttavia, la clinica e istopatologia con la distribuzione dei melanociti è meno ordinata (76)(77)(78);
- **Displastico:** definito anche come "SPARK", sono piccoli simmetrici, ben circoscritti e mostrano una predominanza femminile. Istopatologicamente, i nidi di spindle cells ed epitelioidi si trovano sia in un'epidermide iperplastica che in un modello architettone che ricorda i nevi di Clark, tra cui fibroplasia cutanea, infiltrato linfocitico denso e atipica citologica(79)(80);
- **Desmoplastico:** l'importante sclerosi stromale, la diminuita cellularità e la maggiore deposizione di collagene furono interpretati come un cambiamento legato all'età nella storia naturale del SN (55)(81). Tuttavia, una migliore caratterizzazione di queste lesioni ha portato alla sua classificazione come entità separata (82). Clinicamente sono lesioni asintomatiche che possono presentarsi sul versante testa/collo o sulle estremità. Di piccole dimensioni, tipicamente simmetriche, a forma di cuneo e ben circoscritti. A causa della fibrosi sorprendente sono spesso confuse per i fibromi e il melanoma desmoplastico (81)(83)(61). Istopatologicamente, questa forma è spesso intradermica o composta con poca attività giunzionale, con grandi melanociti e/o epitelioidi disposti in piccoli nidi o distribuiti tra fasci di collagene. I melanociti si presenta con una varietà di fenotipi tra cui cellule di nevo di tipo A / B, melanociti ovoidi, melanociti dendritici e melanociti spitzoidi. Molte di queste lesioni sono amelanotiche, anche se sono stati osservati livelli variabili di melanina, mentre le figure mitotiche sono non comuni. Entra in diagnosi differenziale con il melanoma desmoplastico, ma sono presenti diverse caratteristiche distintive. Questi sono tipicamente più grandi, asimmetrici e situati in aree esposte al sole. I melanomi desmoplastici hanno un coinvolgimento più profondo, con i nidi melanocitici situati più in profondità rispetto a quelli della controparte nevica. I melanomi desmoplastici mostrano un aspetto fibroblastico con nuclei ipercromatici. Piccoli aggregati di linfociti nel derma si trovano in entrambe le lesioni, tuttavia, questi sono tipicamente accompagnati

da figure mitotiche dermici nel melanoma (81)(83)(61). Si faccia riferimento alla Figura (C) 1.4;

- Ialinizzato: può anche essere considerata una variante della forma Desmoplastica. Clinicamente, queste lesioni sono piccole, simmetriche e possono trovarsi ovunque sul corpo. Possono essere composte da melanociti epitelioidi che possono essere disposti in nidi, a singole file o come cellule solitarie, nel loro caratteristico stroma ialinizzato (84)(85);
- Angiomatoso: rara variante benigna di SN con meno di 10 casi segnalati. Queste lesioni sono intradermiche, prive di alcun coinvolgimento epidermico. Sono caratterizzate da fibrosi stromale, proliferazione sparsa di melanociti e hanno abbondanti vasi sanguigni di piccole dimensioni. A causa dei numerosi vasi sanguigni presenti può essere confuso per un angioma. Inoltre, lo stroma ipervascolare può implicare una diagnosi di melanoma regredito. Data la presenza di caratteristiche cliniche e istopatologiche associabili alla nevo desmoplastico, angiomatoso può essere considerato un sottotipo di questo. La presenza di melanociti solitari, la fibrosi stromale, la bassa densità cellulare, sono comuni tra entrambi i tipi di lesioni. L'alta vascolarizzazione e la mancanza di cellule con nuclei ipercromatici distinguono Angiomatoso dal Desmoplastico (86)(87);
- Combinato: variante relativamente rara di nevi combinati che mostra popolazioni di melanociti Spitzoidi combinati con uno o più altre tipologie di melanociti distinti. Tipicamente la combinazione avviene con un nevo di Clark, un nevo displastico o un nevo blu. Si può verificare in pazienti di tutte le età e mostra una predominanza femminile. Queste lesioni sono piccole, simmetriche e ben circoscritte. Istopatologicamente, i melanociti Spitzoidi sono localizzati in modo più superficiale, oltre che presentare anche altre caratteristiche tipiche come iperplasia epidermica ed infiltrati di linfociti. Le altre popolazioni melanocitarie possono essere localizzate lateralmente ai melanociti Spitzoidi, sopra o possono essere mescolati in tutta la lesione. Inoltre vi è la presenza d'atipia citologica, attività mitotica ed infiltrazione dermica profonda accompagnata da un aumento della cellularità. Tutte caratteristiche individuabili in queste lesioni rispetto ad altre tipologie di nevi combinati. Entra in diagnosi differenziale con il melanoma invasivo. Un'attenta identificazione della mitosi dermica profonda, è importante per la differenziazione.

Clinicamente poi, il melanoma sarà tipicamente più grande, asimmetrico e con scarsa circoscrizione (88)(89);

- **Mixoide:** variante estremamente rara, con meno di 10 casi pubblicati in letteratura, descritto per la prima volta nel 1990. Questa variante si presenta con un stroma con depositi di mucina presenti tra isolati o nidi di melanociti. Clinicamente, queste lesioni sono piccole, simmetriche, composte o giunzionali. Possibile presenza dei corpi di Kamino. Queste lesioni hanno una forte somiglianza con i melanomi, per cui è necessario escludere la malignità (90)(91);
- **Halo reaction:** variante rara di SN. Si caratterizza per la presenza d'infiltrati linfocitari densi in una parte o nell'intera lesione, ma può mancare un alone di depigmentazione visibile ad occhio nudo. La reazione infiammatoria cutanea è costituita da linfociti T, eosinofili o plasmacellule che infiltrano i nidi simmetricamente distribuiti di melanociti. Le caratteristiche tipiche del nevo di Spitz sono conservate tra cui iperplasia epidermica, corpi di Kamino e le fessure tra melanociti/cheratinociti. La "reazione" è distribuita simmetricamente su tutto lo spessore della lesione fino alla giunzione dermico-epidermica. Queste lesioni sono pigmentate, simmetriche, circoscritte, a forma di cuneo. Inoltre sono osservate poche figure mitotiche. In presenza di un nevo di Spitz composto con reazione dell'alone, le più comuni combinazioni sono state con il nevo composto comune, il nevo intradermico o con i nevi congeniti superficiali. In generale, la "risposta dell'alone" è limitata alla componente spitzoide delle lesioni, con i linfociti simmetricamente distribuiti. Le figure mitotiche profonde sono assenti in queste lesioni. Sebbene il nevo di Spitz composto con reazione dell'alone possa apparire clinicamente asimmetrico, allertando per un possibile melanoma, se analizzata separatamente ogni componente melanocitaria distintamente dovrebbe apparire simmetrica (92)(93)(94);
- **epitelioide pigmentato:** variante caratterizzata da una lesione molto pigmentata, composta interamente da cellule epitelioidi. L'iperplasia epidermica è caratteristica di queste lesioni, oltre che la presenza dei nidi di melanociti epitelioidi presenti alla giunzione dermo-epidermica. Morfologicamente, appare simile al nevo epitelioide blu, tuttavia, il nevo blu non presenta tipicamente una componente giunzionale importante. Inoltre, deve essere distinto dal melanocitoma epitelioide pigmentato. In entrambe le lesioni sono presen-

ti abbondanti cellule epitelioidi fortemente pigmentate con nidi di giunzione. Non sono state ancora associate alterazioni genetiche specifiche dell'epiteliode pigmentato. Pertanto, la questione se sia una propria entità o una qualche variante del melanocitoma epiteliode pigmentato, rappresenta un'area per ulteriori indagini (95)(96)(97)(98);

- Tubolare: rara variante di SN con strutture tubolari e microcistiche prominenti in associazione agli aggregati di cellule epitelioidi. Queste lesioni non hanno figure mitotiche, atipia cellulare o infiammazione. Clinicamente è una lesione simmetrica piccola, pigmentata o rosa (99);
- Pseudogranulomatoso: è caratterizzato da un denso infiltrato linfocitario che circonda i nidi di melanociti situati a livello della giunzione dermico-epidermica. Clinicamente si presentano come papule rosse, morbide, sessili nei giovani pazienti. Il granuloma piogenico entra in diagnosi differenziale per queste lesioni(100);
- persistente: è noto che i nevi melanocitici possono recidivare post-escissione. Il tempo medio per una recidiva è di 13-17 mesi. Istologicamente si presentano come intradermici, con stroma fibrotico prominente e i gruppi di melanociti che si estendono verso il profondo derma fino al grasso sottocutaneo. Sono stati caratterizzati quattro tipi generali di SN ricorrenti: una lesione pseudomelanoma con coinvolgimento intraepidermico, una tipica lesione SN che sorge su una cicatrice, una lesione simile ad un melanoma nodulare e una lesione simile al nevo di Spitz desmoplastico. Presentano inoltre, una maggiore atipia citologica, mitosi più profonde, asimmetria, diffusione pagetoide e mancanza di maturazione. Clinicamente, queste lesioni possono essere più grandi del nevo di Spitz tipico e si possono estendere oltre la cicatrice di biopsia(101)(102)

## 1.5 Tumore Spitz atipico

### 1.5.1 Epidemiologia

L'incidenza degli AST è sconosciuta, anche se tale lesione spitzoide tende ad essere meno comune degli SN, discorso analogo si può fare per i melanomi Spitzoidi(21). Un recente studio promosso nei Paesi Bassi tra il 1999 e il 2014, ha dimostrato un aumento del numero annuale degli AST da 9 a 153 casi e SM da 8 a 40 casi(103).

Tuttavia, l'aumento generale dell'incidenza e il significativo aumento degli AST in questo studio, potrebbero non essere dovuti ad un aumento reale, ma piuttosto possono essere attribuiti ad un migliore riconoscimento clinico/istopatologico/molecolare di queste lesioni. Ugualmente al SN, la presentazione degli AST è analoga in entrambi i sessi. Sebbene nel complesso siano riportati più casi di SN e AST che si verificano nelle femmine, l'attenzione estetica più marcata può spiegare, almeno in parte, questa predominanza(36)(37).

### 1.5.2 Dimensioni, forma, colore

Le dimensioni rientrano in un intervallo compreso tra 5/10 mm di diametro, questo dato in combinazione con le caratteristiche istopatologiche appropriate può essere una caratteristica distintiva tra AST e SN. L'AST può presentarsi come macula, papula, placca o nodulo. Analogamente al nevo di Spitz, l'AST può presentare una varietà di colori che vanno dal rosa al nero oppure può essere multicolore(21)(16).

### 1.5.3 Dermoscopia

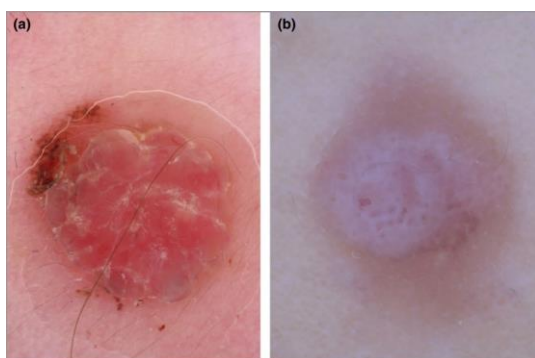


Figura 1.6: (A) La maggior parte dei tumori di Spitz atipici dermoscopicamente presentano un modello atipico/multicomponente suggestivo di melanoma. (B) Tuttavia, circa il 20% di essi potrebbe imitare dermoscopicamente un nevo di Spitz, come in questo caso, con un pattern dotted vessels e depigmentazione del reticolo (47)

L'AST è più difficile da classificare, dato che le loro caratteristiche si sovrappongono alle altre lesioni spitzoidi, soprattutto con il melanoma Spitzoide. Confrontando la dermoscopia di 55 AST e 110 SN, i primi hanno maggiori probabilità di presentare un modello multicomponente o atipico rispetto ai secondi, mentre presentano un pattern "dotted vessels" circa alla stessa frequenza. Le linee bianche (Shiny white lines) possono essere predittive per gli AST, anche se si verificano in circa il



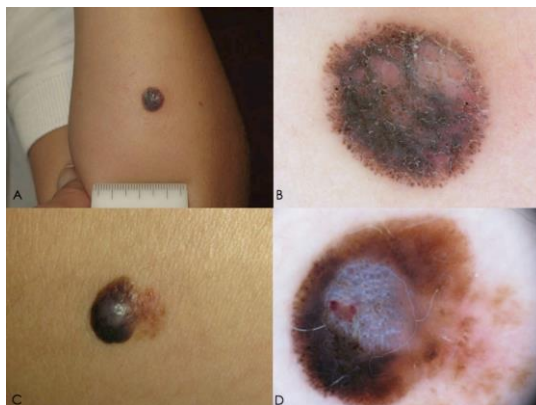


Figura 1.7: (A) Nodulo pigmentato in una bambina di 3 anni. (B) pattern multi-componente, con globuli irregolari e pigmentazione irregolare marrone e rosa. (C) Nodulo pigmentato in una ragazza di 15 anni. (D) Pattern multicomponente, con striature irregolari, pigmentazione bruna omogenea, blue veil e strutture cristalline (41)

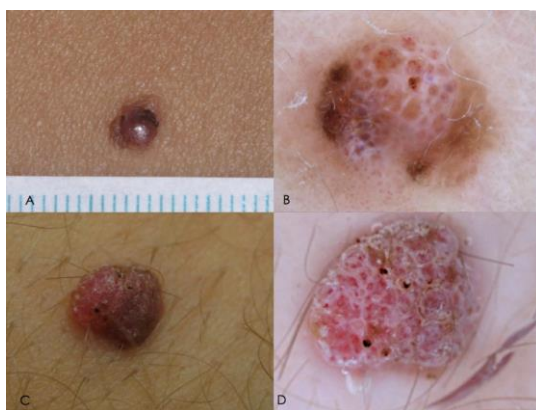


Figura 1.8: (A) Nodulo ipomelanotico in una donna di 34 anni (B) pattern multi-componente, con pigmentazione bruna omogenea, linee bianche e vasi polimorfi (C) nodulo ipopigmentato in un ragazzo di 22 anni (D) pattern atipico con vasi polimorfi, pigmentazione brunastra e ulcerazione (41)

20% di AST, però sono anche un elemento dermoscópico di SM, evidenziando la difficoltà di distinguere AST da quest'ultimi (41)(58).

### 1.5.4 istopatologia AST

Come già più volte ripetuto, la diagnosi degli AST è più controversa, in quanto presenta caratteristiche intermedie sia degli SN che degli SM. Molte delle diagnosi si basano su almeno una o più scoperte istopatologiche anormali. Innanzitutto L'AST tende ad essere più scarsamente circoscritto e asimmetrico rispetto al SN. Da uno studio che ha confrontato 50 casi pediatrici AST con 20 casi pediatrici SN, gli AST significativamente correlavano con l'aumento del tasso mitotico, la presenza di mitosi atipiche, il pleomorfismo nucleare, l'elevato rapporto nucleo/citoplasma, l'assenza di maturazione, la presenza di asimmetria(16)(57)I corpi di Kamino sono ancora più rari negli AST e possono essere di dimensioni più piccole. La diffusione pagetoide negli AST tende ad essere periferica piuttosto che focale, coinvolgendo l'epidermide superiormente e mostrando gruppi di nidi composti da piccole cellule. La perdita di p16 e l'espressione dermica eterogenea di HMB45 sono caratteristi-

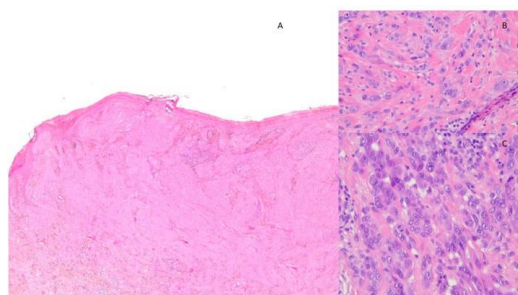


Figura 1.9: Immagine istopatologica di AST che evidenzia (A) la proliferazione melanocitica composta caratterizzata da asimmetria architettónica e crescita intra-dermica irregolare che raggiunge il confine dermo-ipodermico; (B) elementi di morfologia spitzoide con atipia come anucleosi e pleomorfismo nucleare (EE 40x); e (C) diversi mitosi nella componente dermica profonda (12)

che immunofenotipiche che un AST può presentare (98). Infatti, non c'è consenso comune nel distinguere morfologicamente AST da SM, ma è necessario il contributo dell'analisi molecolare e delle diagnosi retrospettive basate sullo sviluppo delle metastasi. Sebbene le linee guida ESP, EORTC e EURACAN presentino i criteri morfologici per differenziare un melanoma di basso da uno di alto grado, riconoscono, come AST e SM, siano comunemente raggruppati in un grado intermedio e non esista un netto limite di alterazioni genetiche tra i due. Ad esempio, le alterazioni del promotore di TERT possono aiutare a favorire una diagnosi maligna. Inoltre le

fusioni MAP3K8 sono più comuni negli AST rispetto ai SN(104)(29). Per concludere il quadro, in riferimento all'istopatologia, andiamo ad analizzare anche quella della controparte maligna propriamente detta. Sulla base delle linee guida dell'OMS 2018, la diagnosi istopatologica del melanoma Spitzoide si basa su elementi istopatologici anormali. Rispetto al SN, gli SM sono generalmente molto più grandi, e come gli AST, mostrano asimmetria, scarsa circoscrizione, ulcerazione, nidi irregolari, mancanza di maturazione, aumento della velocità mitotica e mitosi profonde. Queste lesioni mostrano anche importanti elementi di atipia citologica (56)(105)(106). Nonostante ciò, questi rari tumori portano una sorprendente somiglianza istopatologica con SN e AST, confermando la difficoltà diagnostica. L'analisi molecolare viene utilizzata per confermare il sospetto basato sulla valutazione morfologica. Le alterazioni genetiche associate al melanoma Spitzoide includono fusioni di chinasi, mutazioni PTEN, perdita in omozigosi di 9p21 e mutazioni HRAS(107). Alcuni

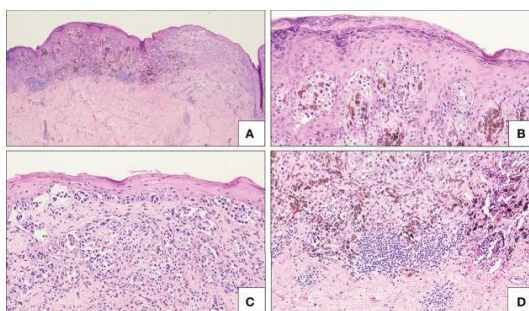


Figura 1.10: istopatologia del SM che evidenzia: (A) proliferazione melanocitica composta caratterizzata da netta architettura asimmetrica con array pagetoide (B), singole cellule alla giunzione, alternate a nidi irregolari e confluenti, con cancellazione dell'epidermide, (C)(D) pigmentazione asimmetrica e gruppi di linfociti.(12)

melanomi Spitzoidi conservano caratteristiche istopatologiche degli SN come la perdita di p16, in quelli con mutazioni HRAS, nidi di melanociti e aumento delle mitosi in quelli con fusioni ALK e strutture simili a rosette in quelli con fusioni NRTK1 (107). I melanomi Spitzoidi con fusioni MAP3K8 mostrano anche una morfologia simile agli AST con mutazioni MAP3K8: morfologia epiteliale, atipie citologiche di alto grado, cellule giganti multinucleate e perdita di p16 (104).

## 1.6 Nuove frontiere diagnostiche

La dermoscopia e l'istopatologia rimangono il gold standard nella diagnosi delle lesioni spitzoidi. Data l'interpretazione impegnativa di alcune lesioni, vedi figura 1.1, tecniche integrative sono utili nella corretta classificazione e nell'interpretazio-

ne prognostica. Ciò vale soprattutto per le lesioni intermedie, come gli AST, dove queste tecniche possono contribuire a valutarne il potenziale maligno. Ci sono diverse tecniche, che possono integrare osservazioni cliniche e istopatologiche, tra cui immunohistochimica (IHC), ibridazione genomica comparativa (aCGH), FISH e Next-generation sequencing (NGS). Nel complesso, con il progredire della conoscenza dei determinanti molecolari delle lesioni spitzoidi, l'uso di tutti questi studi molecolari, in combinazione con protocolli standardizzati, diventerà sempre più rilevante nella corretta diagnosi e classificazione delle lesioni (40).

### 1.6.1 Immunoistochimica

Questa tecnica utilizza anticorpi monoclonali/policlonali per rilevare proteine specifiche all'interno di un dato tessuto, può risultare talvolta uno strumento utile nella diagnosi dei tumori melanocitici (27)(108). IHC è in grado di rilevare regolatori del ciclo cellulare e/o dell'apoptosi come Ki67, PHH3, Cyclin D1 e p16. Inoltre possono essere utilizzati in combinazione con marcatori melanocitici come HMB45, S100/S100A6, MITF, Mart-1/MelanA e SOX10 per la valutazione del tumore (109)(110). Uno dei marcatori più comunemente usati, la proteina Ki-67 (MIB-1), è espressa durante le fasi G1, G2, S, M del ciclo cellulare ed è assente nella fase G0, rendendolo un marcatore utile per differenziare un melanoma attivamente proliferante da un nevo melanocitico benigno (111). Rispetto al melanoma (dove ki-67 è circa al 10% dei melanociti), nel SN tende ad avere un Ki-67 molto più basso (meno del 2% dei melanociti) e un rapporto di conteggio dermico/epidermico inferiore (0,25 SN contro 0,94 SM) (112)(113). Seppur SN ed AST condividano modelli di espressione simili di Ki-67 nel derma superficiale o a livello della giunzione, senza alcuna espressione solitamente alla base della lesione, lo SM tende ad avere un'espressione elevata e diffusa in tutta la lesione. AST tende a mostrare un indice proliferativo più elevato (2-10% dei melanociti) (109). PHH3 è un altro marcatore dell'attività mitotica, il quale è associato alla condensazione della cromatina nelle fasi G2 e M del ciclo cellulare. Sebbene utile permetta un'opzione per la diagnosi differenziale tra benigni e maligni, PHH3 non dimostra alcun vantaggio ed è meno robusto di Ki-67 (114)(115). Questo marcatore contiene un modello di espressione simile a Ki-67 per SN, AST e SM. Un altro marcatore potenzialmente interessante è Cyclin D1 che è sovraespresso in lesioni più avanzate, tuttavia, ci sono dati discordanti e limitati nella letteratura (116). La perdita o l'inattivazione di CDKN2A, a livello del cromosoma 9p, è uno degli eventi molecolari più frequenti nel melanoma cutaneo, che si verifica nel 50% dei casi (117). Tale gene codifi-

ca la proteina p16, un inibitore della chinasi ciclina-dipendente, che è vitale per la soppressione neoplastica e la cui assenza promuove la progressione del ciclo cellulare (118). SN colora fortemente e diffusamente per p16, ma l'identificazione di un modello a mosaico, può anche essere interpretato come un segno di suscettibilità. Al contrario, l'assenza parziale o completa, a causa della perdita in omozigosi di 9p21, è un'indicazione di perdita di espressione di p16 ed è un utile studio di un melanoma sospetto (119)(120). AST può presentarsi con perdita in eterozigoti o in omozigoti di 9p21 portando a un certo grado di variabilità nella positività di p16 (121). HMB-45, Melan A, S100, MITF, SOX10 e tirosinasi sono altri marker comunemente usati come aiuto nella diagnosi delle lesioni melanocitiche (122)(123). Sebbene HMB-45 non sia particolarmente utile come marcatore specifico, il suo modello di colorazione può aiutare a distinguere SN da SM. SN visualizza un modello di colorazione HMB-45 organizzato e stratificato in contrasto con la frequenza e la distribuzione di macchie altamente variabili nel melanoma. Comunemente SN visualizza un modello di colorazione HMB-45 progressivamente diminuito, quello dell'AST è diminuito o variabile nella derma, mentre la colorazione profonda del derma è comune in SM. Melan-A, SOX10 e S100 tendono a visualizzare modelli di colorazione identici in lesioni melanocitiche, tra cui SN (124). I sottotipi della famiglia delle proteine S100 possono essere di qualche aiuto per distinguere diverse lesioni melanocitiche: in uno studio su 42 casi SN, tutte le lesioni hanno espresso la proteina S100A6 rispetto al solo 33% dei 105 casi di melanoma (110). Inoltre, SN può visualizzare un modello diffuso di S100A6, mentre il melanoma uno a chiazze. Un altro marcatore, MITF, sembra avere un'intensità leggermente inferiore in SN (125)(126). Le combinazioni di questi diversi elementi riconosciuti con l'IHC possono aiutare a differenziare algoritmicamente tra SN, AST e SM ed integrare le diagnosi differenziali istopatologiche. In questo contesto, uno studio recente ha evidenziato che se l'IHC mostra una proliferazione delle cellule del derma profondo attraverso il Ki-67 in combinazione con la perdita completa di p16 e/o HMB45, la lesione più probabilmente è un SM o AST. Un recente studio ha promosso di utilizzare un punteggio combinato di p16, Ki-67 e HMB-45 per distinguere tra SN, AST e SM (127).

## 1.6.2 Array CGH

L'ibridazione genomica comparativa di Array identifica le alterazioni numeriche, andando a confrontare l'intero genoma di una data lesione con del DNA di riferimento. Le alterazioni del numero di copia sono tipicamente assenti negli SN, tutta-

via, i guadagni di 11p sono stati rilevati in desmoplastico SN e sono stati segnalati anche guadagni di 7q (109)(128). Un AST con caratteristiche più benigne tende ad avere uno/due alterazioni cromosomiche, mentre un AST più atipico tende ad averne di più. Nessuna singola alterazione cromosomiche dovrebbe essere usata per definire il potenziale maligno di una lesione spitzoide. Il melanoma Spitzoide tende a visualizzare più alterazioni del numero di copia. La limitazione dell'aCGH è l'incapacità di schermare altre alterazione genomiche, come le mutazioni puntiformi o traslocazioni bilanciate. Inoltre, la quantità di input del tessuto può essere un'altra limitazione, con falsi risultati negativi quando un campione contiene cellule tumorali di circa il 50%. Infine, è una tecnologia costosa, dispendiosa in termini di tempo e laboriosa, rendendola poco pratica da eseguire su tutti le lesioni spitzoidi borderline (27).

### 1.6.3 FISH

L'ibridazione in situ a fluorescenza utilizza sonde di DNA etichettate con molecole fluorescenti per rilevare sequenze di DNA su cromosomi metafasi e/o nuclei interfase (129). Sono stati sviluppati test FISH standardizzati per aiutare nella diagnosi di melanoma e rappresentano un test per chiarire la natura delle lesioni borderline e non solo. Il test originale standard FISH del melanoma, attualmente in uso, ricerca i seguenti elementi: MYB (6q23), centromero 6, CCND1 (11q13) e RREB (27). Sono stati fatti sforzi per adattare questo pannello per utilizzarlo anche per le lesioni Spitzoidi. Con l'associazione di delezioni 9p21 in omozigosi di CDKN2A con melanoma Spitzoide, sono stati sviluppati cinque test della sonda (6p25, 8q24, 11q13, 9p21, CEN9) e sei saggi della sonda (RREB1, CCND1, MYB, EP6, CDKN2A e CEP9) (118). FISH è stato trovato utile per la stratificazione prognostica negli AST, con delezioni omozigote 9p21 associate ad un comportamento aggressivo e al rischio intermedio di comportamento aggressivo nei casi con guadagni di 6p25 o 11q13 rispetto alle delezioni PESC negative o 6q23 (130). Sebbene la FISH sia più conveniente rispetto all'aCGH, l'analisi FISH delle lesioni spitzoidi tende ad avere un maggior tasso di falsi negativi, quindi la FISH dovrebbe essere eseguita solo da laboratori altamente qualificati. (131) Inoltre, l'analisi è limitata a soli 4-6 loci genomici, quindi le microdelezioni o gli inserimenti e i riarrangiamenti genomici in genere non vengono rilevati. Pertanto, un test FISH negativo non esclude necessariamente una lesione maligna spitzoide. Inoltre, la tetraploidia trovata nel 5-10% di SN benigno può confondere i risultati di FISH con falsi positivi per forme maligne (132). Da un recente studio, l'analisi con la tecnica è stata eseguita in 85

lesioni, comprendente 43 casi istologici AST e 42 controlli SN, abbinati per età e sesso. Il risultato è stato che 34 si sono dimostrati positivi con il test FISH (71% AST; 29% SN) e 51 sono stati negativi dal test FISH (63% SN; 37% AST), con le lesioni positive alla FISH che correlavano con un'istologia atipica (12).

#### **1.6.4 Next Generation Sequencing**

Quest ultimo è un potente strumento che consente il sequenziamento in parallelo di milioni di piccoli frammenti di DNA contemporaneamente e la loro successiva valutazione rispetto al genoma di riferimento umano, il che consente il rilevamento di diverse tipologie di alterazioni (133). Rispetto alle precedenti tecniche, questo sequenziamento è in grado di valutare una più ampia varietà di alterazioni genomiche come mutazioni puntiformi, microdelezioni/inserzioni, traslocazioni ed alterazioni del numero di copie. Con l'utilizzo di pannelli selezionati di geni dall'intero genoma, NGS risulta un'opzione interessante per aiutare nella diagnosi delle lesioni spitzoidi. Poiché il costo della NGS diminuirà nel tempo, potrebbe diventare una valida arma rispetto alle altre tecniche molecolari. In uno studio su un protocollo basato su NGS per i tumori melanocitici, sono stati confrontati 16 nevi benigni (tra cui 7 lesioni Spitzoidi, 4 epitelioidi e 5 varianti nevi blu) contro 15 melanomi. I target NGS per i SN includevano le fusioni BRAF, MET, NTRK1 e ROS, mentre per SM includevano mutazioni di fusione EML4, BRAF, MAP2K1 e TERT (134). Confrontando i risultati si è visto che NGS concordava con il test FISH per diversi casi, ma la sensibilità/specificità della prima risultava essere migliore, infatti è stato in grado di diagnosticare correttamente tutte le lesioni maligne. Pertanto, l'NGS può essere in grado di diminuire il problema dei falsi negativi e può aiutare a migliorare la valutazione del potenziale maligno delle lesioni Spitzoidi. Inoltre la tecnica è stata recentemente utilizzata per riclassificare SN e SM dai melanomi che presentavano caratteristiche spitzoidi, dopo che l'OMS ha proposto l'eliminazione delle lesioni con mutazioni BRAF e NRAS dalle categorie di SN e SM (135). Su 80 SN e 26 SM, 12 casi sono stati riclassificati in base alla presenza di mutazioni BRAF e NRAS rilevate da NGS. La maggior parte di questi melanomi conteneva mutazioni di promotori RAF, NRAS, NF1 e TERT, le quali sono state associate ad una peggiore sopravvivenza libera da recidiva e potenziale metastatico rispetto a SN e SM. Questo apre alla possibilità di utilizzo della NGS per chiarire le diagnosi, con importanti implicazioni per la gestione dei pazienti. Come definito in precedenza, sebbene i costi siano in calo, NGS è ancora significativamente più costoso delle altre tecniche molecolari.

## 1.7 Biologia molecolare spitzoide

Come già trattato nel paragrafo precedente, tecniche come l'ibridazione genomica comparativa e la FISH hanno permesso di evolvere la valutazione delle lesioni spitzoidi. Più recentemente l'avvento della NGS ha permesso di scoprire nuovi profili mutazionali. Generalmente sia nevi che melanomi condividono pathway di segnale iperattivate che promuovono la crescita cellulare, tra cui PI3K-AKT e RAF-MEK1/2-ERK1/2 (136)(137). Per quanto riguarda la forma benigna, queste sono praticamente le uniche mutazioni presenti (138). Nella controparte maligna, invece, il numero di mutazioni è maggiore. Possono interessare i meccanismi di oncosoppressione ed innescare a loro volta ulteriore segnali oncogenici, come la delezione 9p21, il guadagno di numero di copia 6p25, TP53 o eTERT-mutazione (139)(140)(141). Possiamo affermare, quindi, come gli eventi driver determinino l'istotipo specifico della neoplasia melanocitica, mentre tipologia/quantità di aberrazioni promotrici ne definiscono la loro aggressività. Secondo questa affermazione, quindi, possiamo interpretare gli AST come la combinazione di mutazione presenti sia nei nevi sia nei melanomi, ma con eventi genetici che conferiscono un potenziale maligno inferiore rispetto ad un melanoma. Come già descritto, le mutazioni presenti nello spettro spitzoide sono gli oncogeni HRAS e MAPPA 2K1, oltre che fusioni geniche che coinvolgono ALK, BRAF, MET, NTRK1, NTRK2, NTRK3, RET, ROS1 e MAPPA 3K8 (142)(143)(144)(145)(146)(104)(147)(148)(149)(150).

### 1.7.1 HRAS

La famiglia dei proto-oncogeni RAS ne comprende tre, vale a dire KRAS, NRAS e HRAS, rispettivamente situate sul braccio corto del cromosoma 12, 1 e 11 (151). Le proteine codificate sono implicate nella trasduzione del segnale attraverso le vie PI3K-AKT e RAF-MEK1/2-ERK1/2 che stimolano la differenziazione, proliferazione e la sopravvivenza cellulare (152)(153). Nelle lesioni melanocitiche quali i comuni nevi o melanomi riscontriamo quasi esclusivamente mutazioni NRAS, mentre nelle lesioni spitzoidi individuiamo HRAS (23). Rispetto alle altre isoforme, HRAS sembra avere una maggiore affinità per il percorso PI3K-AKT che si ritiene sia responsabile di conferire il fenotipo epiteloide o spindle cells nelle lesioni spitzoidi (27)(154). Analogo risultato si presenta nel caso di guadagni di numero di copie nella regione 11p che comprende HRAS con sovraespressione del prodotto proteico. La mutazione è presente fino al 15-20% degli SN solitari, ma questo numero aumenta significativamente in presenza di un'amplificazione del cromosoma



11p fino al 67%(155)(128)(156). Le mutazioni HRAS coinvolgono comunemente i codoni 59–61 nell'esone 3 (principalmente Q61R e Q61L), mentre raramente colpiscono i codoni 12 e 13 nell'esone 2 (principalmente G13R) (157)(158)(159)(160). Il rilevamento della mutazione HRAS richiede NGS o sequenziamento classico, mentre l'analisi FISH è necessaria per l'identificazione delle alterazioni del numero di copia 11p. L'anticorpo monoclonale SP174 riconosce con elevata sensibilità la proteina mutante RAS Q61R. Sfortunatamente, tuttavia, reagisce con tutte le isoforme risultando inutile da un punto di vista diagnostico (161)(162). Anticorpi contro la proteina HRAS wild type possono essere d'aiuto per evidenziare le lesioni spitzoidi con sovraespressione HRAS. Dal punto di vista istopatologico (1.11) riscontriamo un pattern desmoplastico con lesioni simmetriche intradermiche caratterizzata da cellule epitelioidi e a fuso con abbondante citoplasma eosinofilo, nuclei vescicolari, immersi in fasci di collagene spessi (25). La marcata atipica citologica può essere presente in circa il 40% di HRAS (29). Tuttavia, va sottolineato che, da un lato,

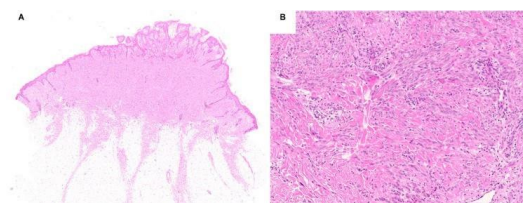


Figura 1.11: istopatologia di un nevo di Spitz HRAS mutato che evidenzia: proliferazione melanocitica simmetrica, esofita e dermica composta da fascicoli di melanociti con citoplasma eosinofilo, con nuclei vescicolari moderatamente pleomorfi e nucleoli distinti, mescolati con fascicoli di collagene spessi(163)

non tutte le lesioni spitzoidi con queste alterazioni genomiche sono desmoplastiche e, dall'altro, tale atipia citologica è stata segnalata anche nelle lesioni spitzoidi con mutazioni ROS1 ed ALK (164). La maggior parte delle neoplasie di Spitz con mutazioni HRAS sono facilmente riconoscibili come SN, ma diversi casi si verificano con caratteristiche AST. Nonostante ciò, HRAS mostra pleiotropia, poiché altre lesioni melanocitiche benigne come i nevi sebacei e nevi Spilus mostrano spesso mutazioni HRAS (165). Inoltre, queste lesioni si trovano comunemente sulla testa e sul collo, con posizione secondaria più comune a livello dell'estremità. La prognosi è generalmente favorevole (166)(109). Infatti da un campione di oltre 150 melanomi, solo uno presentava un'amplificazione di HRAS (137). Per cui la mutazione HRAS è sinonimo di un buon risultato clinico. Un'eccezione a ciò è uno studio che ha scoperto che le regioni amplificate dei melanomi acrali (che hanno una prognosi sfavorevole) spesso contengono mutazioni HRAS (167).

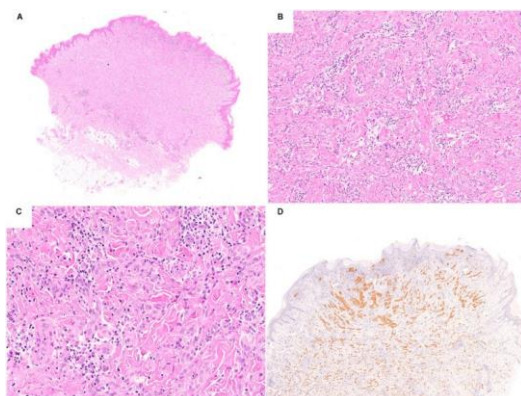


Figura 1.12: istopatologia di un nevo di Spitz con fusione ALK che mostra: (A-C) ampia proliferazione melanocitaria esofitica e dermica con base infiltrativa, composta da melanociti epitelioidi e fusati apigmentati, di grandi dimensioni, con citoplasma anfofilo, nuclei vescicolari e nucleoli prominenti, disposti in fascicoli ples-siformi intersecanti (colorazione ematossilina-eosina; ingrandimento originale 10×, 100× e 200×, rispettivamente) (D) IHC: colorazione citoplasmatica diffusa e granulare (163)

### 1.7.2 ALK

Tale gene risiede a livello del braccio corto del cromosoma 2 e codifica per un recettore TK coinvolto nelle vie PI3K-AKT, RAF-MEK1/2-ERK1/2 e JAK3-STAT3 (168). Scoperti per la prima volta nel linfoma anaplastico a grandi cellule come traslocazione driver, le alterazioni del gene ALK sono state descritte in diversi tumori, tra cui le neoplasie melanocitiche (169)(170)(171). Le fusioni di ALK nelle lesioni Spitzoidi si presenta negli SN ed AST tra il 10% al 20%, mentre è limitata a circa l'1% dei SM (53). I principali partner di fusione di ALK sono TPM3 e DCTN1. Rispetto ad altre fusioni coinvolte nella patogenesi delle lesioni spitzoidi, queste alterazioni portano allo sviluppo di lesioni di grandi dimensioni (172)(173). Altri partner di fusione di ALK nelle lesioni spitzoidi sono: MLPH, MYO5A, CLIP1, DDX3Y, KANK1, EEF2, GTF3C2, NPM1, PPFIBP1, SPTAN1 e TPR (28)(174)(175). L'immunohistochimica di ALK con gli anticorpi monoclonali D5F3 e 5A4 funge da eccellente surrogato per fusioni ALK: l'espressione è diffusa e granulare nel citoplasma dei melanociti, ma può essere presente anche a livello della membrana o nel nucleo (143). NGS e FISH sono le tecniche molecolari appropriate per la rilevazione delle fusioni ALK. Macroscopicamente queste specifiche lesioni spitzoidi sono grandi e solitarie, che sorgono a livello dell'estremità dei pazienti giovani (143). Istologicamente (1.12), la maggior parte di queste lesioni condividono un modello distintivo a forma a cuneo composto da una base bulbosa ed infiltrativa (53). La presenza di melanociti apigmentati, grandi, fusi con fessure pericellulari, citoplasma anfo-

filo, nuclei vescicolari e nucleoli prominenti, che crescono in fascicoli intersecanti plessiformi (176). Tuttavia, è importante notare come altri sottotipi molecolari di lesioni spitzoidi possano mostrare caratteristiche sovrapposte, come le NTRK1-fused (176). Un altro modello segnalato per essere abbastanza caratteristico per questo genere di alterazione molecolare è quella angiomatica (29). L'epidermide è spesso iperplastica e la diffusione pagetoide è solitamente assente, come anche i corpi di Kamino. Il pleomorfismo nucleare è di solito lieve. Sono state descritte caratteristiche associate a prognosi negativa, come ulcerazioni, mitosi profonde e invasioni perineurali (53)(176). Da notare che i nevi di Spitz combinati sono tipicamente correlati alla fusione di ALK (177). Uno studio del 2022 su 352 lesioni spitzoidi, ha confermato che la distinta morfologia istologica dei nevi di Spitz con ALK mutato, rende queste lesioni distinguibili da altri tumori traslocati. Si può dunque concludere che un esame istopatologico accurato è sufficiente a sollevare sospetti che possono essere confermati dai test molecolari aggiuntivi (29).

### 1.7.3 ROS

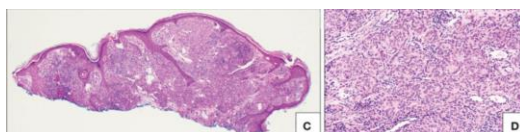


Figura 1.13: istopatologia di nevo di Spitz ROS mutato: (C) proliferazione diffusa di melanociti (D) per lo più in piccoli nidi (40)

Questo proto-oncogene si localizza sul braccio lungo del cromosoma 6 e codifica per un recettore TK implicato nelle vie PI3K-AKT, RAF-MEK1/2-ERK1/2 e JAK3-STAT3 (178). Secondo diversi studi, le fusioni di ROS1 sono state identificate nel 7-17% dei casi di SN, mentre SM di solito non hanno questa traslocazione (164). Tra queste lesioni, sono stati segnalati diversi partner di fusione, come PW-WP2A (37% dei casi) e TPM3 (31% dei casi). Altri meno comuni sono: PPFIBP1, CLIP1, ERC1, FIP1L1, HLA-A, MYH9, ZCCHC8, CAPRIN1, KIAA1598, MYH9 e MYO5A (25)(28)(72). L'immunoistochimica con il monoclonale D4D6 contro ROS1 è un test di screening veloce, a basso costo e ben performante per l'identificazione di queste forme. In effetti, ha mostrato sensibilità e specificità del 100% rispetto alla FISH (80). Sebbene siano stati osservati diversi pattern immunoistochimici di ROS1, come la colorazione citoplasmatica granulare o diffusa, non sono state riscontrate correlazioni specifiche con la localizzazione cellulare delle varie fusioni ROS1 (179). Come già ampiamente trattato, anche NGS può essere utiliz-

zata per lo studio. Clinicamente, riscontriamo papule rosa-rosse distribuite in tutto il corpo, principalmente nei giovani adulti. Istopatologia, non identifica caratteristiche distintive specifiche associate alle fusioni ROS1, in quanto molte di esse sono condivise con altri sottotipi molecolari, come quelle NTRK1-fused (164). Tuttavia, la maggior parte di queste lesioni mostrano un pattern composto simil placca o nodulo con prominente nidificazione giunzionale (1.13), con possibile coinvolgimento annessiale ed eliminazione transepidermica. Riscontriamo poi melanociti fusi puri o epitelioidi, medio/grandi dimensioni, con pleomorfismo nucleare da lieve/moderato. Recentemente, i modelli plessiformi e angiomatici sono stati riportati come più comuni nelle lesioni spitzoidi ROS mutato rispetto ad altri sottotipi molecolari (29). Sono stati trovati casi di fusione di ROS1 in nevi desmoplastici (164). In tutti gli studi pubblicati, la presenza delle fusioni ROS1 si associavano ad un esito favorevole, caratterizzato da nessuna ricorrenza, assenza metastasi a distanza e biopsia linfonodale sentinella negativa. Quindi, si può ammettere che le lesioni spitzoidi ROS1 mutato di solito presentano un decorso indolente (164). La presenza di tali alterazioni ha un valore predittivo di risposta terapeutica, infatti da uno studio promosso in diversi casi di lesioni spitzoidi non resecabili con fusione GOPC-ROS1, il trattamento con crizotinib, ha dimostrato di essere efficace nelle lesioni in un ciclo di trattamento di 20 settimane (180). Le fusioni ROS1 non sono limitate al solo spettro spitzoide, ma possono essere trovate anche nel melanoma acralico, così come in altri tumori extracutanei come i gliomi pediatrici e adenocarcinoma polmonare (181).

#### 1.7.4 NTRK

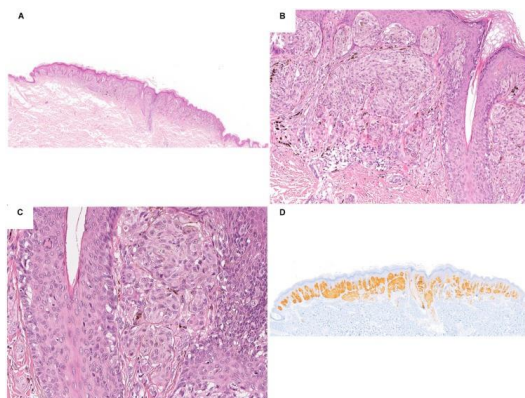


Figura 1.14: istopatologia di AST NTRK1 mutato: (A-C) lesioni esofitiche e simmetriche, che formano un modello "filigree-like rete ridges", con silhouette a base piatta o a cuneo. (D) IHC che mostra colorazione citoplasmatica diffusa (163)

I proto-oncogeni NTRK sono una famiglia composta da tre membri, quali NTRK1, NTRK2 e NTRK3, rispettivamente presenti a livello del braccio lungo dei cromosomi 1, 9 e 15, codificando per le proteine TRKA, TRKB e TRKC, coinvolte nelle vie di segnale PI3K-AKT, RAF-MEK1/2-ERK1 (182). Come in altri casi già discussi, l'attivazione costitutiva di questi geni, influenza la sopravvivenza, proliferazione e morte cellulare. Tra le lesioni spitzoidi, tutte le fusioni sono state segnalate, ma le alterazioni NTRK1 sono di gran lunga le più diffuse (183). La prognosi di queste lesioni NTRK1 o NTRK3 è invariabilmente favorevole, infatti non sono state segnalate metastasi ed esiti avversi a distanza (145). Le fusioni NTRK sono state descritte per la prima volta nelle lesioni spitzoidi in uno studio di Wiesner, descrivendo la fusione di NTRK1 nel 16% delle 140 lesioni Spitzoidi analizzate, tra cui SN, AST e SM (25). I partner di NTRK1 finora identificati sono LMNA, TPM3, TP53 e KHDRBS1. Per NTRK3 sono ETV6, MYO5A, MYH9 e SQSTM1. Infine l'unica fusione NTRK2 ha TFG come partner (146)(184). Istopatologicamente 1.14 le lesioni spitzoidi NTRK1 mutato presentano lesioni esofitiche e simmetriche, che formano un modello "filigree-like rete ridges", con silhouette a base piatta o a cuneo. I corpi di Kamino si incontrano frequentemente, come anche la formazione di rosette. L'unico SN NTRK2 mutato apparteneva alla variante istologica del nevo di Reed. La lesione è giunzionale, con epidermide iperplastica, grandi nidi con fessure periferiche composte da melanociti fuso pigmentati con abbondante citoplasma eosinofilo. Non si osservano né il pleomorfismo nucleare né i mitosi. I corpi di Kamino sono ampiamente distribuiti (146). La variante NTRK3 sembra essere l'alterazione genomica più tipica del nevo di Reed (185). Sono tipicamente composte o dermali, con iperplasia epidermica e silhouette a forma di cupola. A seconda delle fusioni sottostanti, le lesioni mostrano una diversa morfologia: un esempio, sono le lesioni con la fusione MYH9-NTRK3, caratterizzate da melanociti epitelioidi moderatamente grandi, disposti a livello di uno stroma desmoplastico centrale e fasci periferici di collagene.

### **1.7.5 RET, TEM, MAP3K8, MAP2K1, BRAF**

A differenza delle soprastanti alterazioni molecolari, le prossime risultano essere meno comuni. Il proto-oncogene RET si trova a livello del braccio lungo del cromosoma 10 e codifica un recettore TK implicato nelle vie PI3K-AKT, RAF-MEK1/2-ERK1/2, e PLC-1 (186). Le fusioni RET sono state riscontrate tra il 2% e 4% delle lesioni spitzoidi con i geni partner CCDC6, KIF5B, LMNA, GOLGA5 e MYO5A (187). A causa dell'infrequenza delle traslocazioni RET e MET, è difficile stimare

correttamente la percentuale di lesioni con questa fusione all'interno delle tre categorie spitzoidi. Per la loro individuazione è necessaria l'analisi NGS o FISH. Le poche lesioni di spitzoidi RET-fused descritte sono principalmente simmetriche con iperplasia epidermica, con silhouette simile a una placca, grandi nidi di melanociti epitelioidi, aventi dimensioni intermedie, caratterizzati da atipia nucleare lieve/moderata (187). Nonostante le fusioni RET siano state trovate in SN, AST e MST, la prognosi è favorevole poiché il follow-up non ha presentato eventi avversi (185). Il trattamento proposto include vandetanib o cabozantinib, che sono inibitori selettivi RET (25). Il gene MET, invece, si trova sul braccio lungo del cromosoma 7 e svolge un ruolo centrale nella crescita cellulare e nella motilità, così come nell'omeostasi dei melanociti (143). Seppur questa alterazione sia rara, molti sono i partner di fusione come TRIM4, ZKSCAN1, LRRFIP1, PPFIBP1, EPS15 e DCTN1 (134). Le lesioni spitzoidi che trasportano questa traslocazione non hanno molte caratteristiche clinico/istopatologiche distintive che aiutano nella diagnosi. Tuttavia sono presenti più frequentemente melanociti con citoplasma anfofilo. Tutti i casi con follow-up disponibile, si sono comportati indolentemente (134). MAP3K8 è una proteina serina-treonina che attiva MEK, recentemente dimostrata essere un possibile driver oncologico delle lesioni spitzoidi (28). SVIL è il partner di fusione 3' più comune che si trova in queste lesioni, mentre altri partner ricorrenti sono DIP2C, UBL3, STX7, SPECC1, PRKACB e CUBN (188). La frequenza di questa mutazione è ancora dibattuta, in quanto le percentuali derivate da diversi studi mostrano risultati diversi. Infatti da un'analisi si ritiene che il 33% di SM ospita una fusione MAP3K8, mentre altri studi hanno scoperto che solo l'8% delle lesioni spitzoidi totali ospita una fusione MAP3K8. Clinicamente, si presentano come lesioni pigmentate esofitiche a livello degli arti inferiori in un'ampia fascia di età, con una leggera predominanza nel sesso femminile. Istopatologicamente si rileva una morfologia epitelioida con melanociti monomorfici e amelanotici, marcata atipia citologica ed ulcerazione. Si è visto, inoltre, che la sovraespressione MAP3K8 determina la presenza di metastasi linfonodali, indicando che la presenza di tale mutazione può svolgere un ruolo importante nel determinare la prognosi delle lesioni spitzoidi (104). Per quanto riguarda MAP2K1, questo si localizza a livello del braccio lungo del cromosoma 15 e codifica MEK1, proteina chinasi a doppia specificità direttamente a valle della RAF, che a sua volta fosforila ERK nella via RAF-MEK1/2-ERK1/2 (147). Lo spettro delle mutazioni di MAP2K1 consiste in genere in delezioni in-frame, che portano a un'attivazione MEK compromessa attraverso meccanismi che possono essere RAF dipendenti, RAF indipendenti (in-

sensibili agli inibitori MEK allosterici) oppure resistenza agli inibitori di RAF (189). Per quanto riguarda le lesioni spitzoidi, la maggior parte di queste mutazioni coinvolgono gli esoni 2 e 3, in particolare per quanto riguarda le delezioni in-frame, le quali vanno a rimuovere un dominio autoinibitore della proteina, che porta così a una costitutiva attivazione della pathway, che non risponde all'inibizione del feedback da parte di RAS e RAF (149). Nonostante ciò, sono mutazioni estremamente rare in questo contesto. Ad oggi, sono stati descritti solo pochi casi delle lesioni spitzoidi mutanti MAP2K1, le più comuni sono AST e MS. Le tecniche di sequenziamento come NGS, sono necessarie per l'individuazione di queste. Clinicamente, sono piccole lesioni pigmentate, piatte o leggermente rilevate, soprattutto a livello degli arti inferiori, con una sostanziale preponderanza nel sesso femminile. Istopatologicamente, seppur vista la rarità dei casi il numero di campioni non è elevato, queste lesioni sembrano essere caratterizzate da una silhouette a forma di cuneo composto o intradermico, con architettura plessiforme e con convergenza intorno ai fasci neurovascolari di nidi composti da grandi cellule epitelioidi con nuclei vescicolari e pleomorfismo nucleare moderato/grave. Inoltre vengono descritti anche pattern che comprendono pigmentazione pesante, l'accumulo stromale di melanina, la mancanza di iperplasia epidermica e scarsa maturazione. Questa eterogeneità morfologica viene giustificata dal fatto che nella maggioranza dei casi ospita anche altre mutazioni a livello di oncogeni ed oncosoppressori, come BRAF, IDH1, BAP1 e NF1 (163). Tuttavia, seppur in concomitanza di altre mutazioni, durante il follow-up dei pazienti non sono state riscontrate rilevati recidive o esiti avversi (149)(150). Concludiamo con il proto-oncogene BRAF, localizzato sul cromosoma 7q, il quale codifica per la proteina chinasi a monte di RAF-MEK1/2-ERK1/2 (190)(191). I pattern di fusioni sono molti (192). L'analisi NGS o FISH è necessaria per la rilevazione delle mutazioni. Seppur la valutazione di BRAF, di norma, escluda lesioni spitzoidi propriamente dette, alcune di esse può presentare la mutazione BRAF come driver oncogeno (40). Clinicamente, le lesioni spitzoidi sono descritte come papule rosa principalmente sugli arti inferiori, ma anche a livello delle estremità superiori. La maggior parte dei pazienti sono giovani, anche se leggermente più anziani di quelli con altri sottotipi di lesioni spitzoidi. C'è una chiara predominanza femminile con rapporto M:F 1:2 (193). Istologicamente, queste lesioni sono per lo più composte o dermali, con iperplasia epidermica, a forma di cuneo o silhouette nodulare. Sono composte da melanociti epitelioidi intermedi a grandi con citoplasma anfofilo, nuclei vescicolari e nucleoli prominenti. Il pleomorfismo nucleare è spesso identificato. Le lesioni spitzoidi che ospitano fusioni BRAF possono mostrare un tipico

modello caratterizzato da una componente dermica ipercellulare superficiale insieme ad una componente dermica ipocellulare profonda con desmoplasia prominente (194).

## 1.8 Gestione clinica

Come già ampiamente trattato precedentemente, la gestione nella pratica quotidiana è difficoltosa, chiedendo la necessità di approcci integrativi. Inoltre la letteratura fornisce indicazioni contrastanti sulle pratiche e trattamenti da adottare per la gestione delle lesioni spitzoidi, soprattutto in campo pediatrico (195). Un approccio conservativo è spesso suggerito nella gestione delle lesioni spitzoidi nei bambini, soprattutto con meno di dodici anni, considerando la rarità delle lesioni maligne nei bambini e la mortalità ancora più rara causata da SM nel pediatrico, che, in effetti, ha una prognosi più favorevole rispetto alla controparte adulta delle lesioni spitzoidi. D'altro canto, nei pazienti pediatrici di età superiore ai dodici anni, è suggerita l'escissione o il monitoraggio ravvicinato di tutte le lesioni Spitzoidi, anche in assenza di caratteristiche atipiche (12). Data la somiglianza con il melanoma, la maggior parte dei dermatologi opta per la biopsia in sospetto SN o AST, specialmente nei pazienti più anziani (196). L'escissione è in genere raccomandata per evitare la recidiva, per poi ampliare i margini, se questi sono positivi (197). Se i margini sono negativi, l'osservazione è sufficiente (198). Se viene scelto di osservare una lesione piuttosto che rimuoverla, si raccomandano intervalli di follow-up di 15 giorni per le lesioni nodulari ed intervalli di 2-3 mesi per lesioni piatte negli adulti o fino alla stabilizzazione dermoscopica nei bambini. Per quanto riguarda lo SM, attualmente, è tipicamente gestito utilizzando le stesse linee guida del melanoma convenzionale (199). La biopsia del linfonodo sentinella è pratica quasi abbandonata, poiché la sua utilità prognostica e terapeutica è in realtà dibattuta, oltre alla sua elevata morbilità (57)(200).



## Capitolo 2

### Obiettivi dello studio

Lo scopo dello studio consiste nel valutare la presenza di specifici pattern clinici macroscopici e dermatoscopici sia in lesioni spitzoidi benigne sia in lesioni a potenziale maligno incerto (AST) per poi confrontarle con i corrispettivi esami istologici. In particolare, l'obiettivo è quello di fornire al clinico degli strumenti che permettano già di caratterizzare al meglio queste lesioni, così da valutare già a priori l'outcome del paziente e pianificare al meglio la gestione di quest'ultimo.



## Capitolo 3

### Materiali e Metodi

Il lavoro presentato è uno studio retrospettivo di coorte che comprende 86 pazienti, tutti con età  $\geq 13$  anni, che hanno ricevuto diagnosi ed escissione di nevo di Spitz (n=57) o di tumore Spitz atipico (n=29) nel periodo tra il 2013 e il 2023 presso l'UOC Melanomi e Sarcomi dell'Istituto Oncologico Veneto (IOV) e l'Azienda Ospedaliera di Padova (AOPD).

#### 3.1 Raccolta dei dati

Tutti i dati sono stati estratti da un database locale organizzato appositamente. Sono stati inseriti tutti i pazienti con diagnosi di nevo di Spitz e di tumore Spitz atipico, mentre non sono stati compresi nell'analisi i pazienti con diagnosi di melanoma di Spitz. Le informazioni demografiche riguardano l'età alla diagnosi, il sesso e la localizzazione della lesione. Quest'ultima, come le caratteristiche macroscopiche e dermatoscopiche, sono state valutate attraverso fotografie presenti in un apposito programma, chiamato "Dermox". Questo sistema permette una gestione completa di tutte le attività svolte dai Servizi di Dermatologia con acquisizione, elaborazione, confronto ed archiviazione di immagini e filmati. Il dermatoscopio utilizzato per le analisi è stato il modello "HEINE DELTA 20T". Le informazioni riguardo la clinica macroscopica delle lesioni comprendono:

- pattern macula (lesione elementare della cute, <1cm, pianeggiante);
- pattern papula (lesione elementare della cute, <1cm, in rilievo);
- dimensioni max in mm (il lato/raggio più lungo della lesione);
- area max in mm<sup>2</sup>;

- presenza di pigmentazione;

Le informazioni riguardo alla dermoscopia comprendono:

- presenza di un pattern Spitz;
- presenza di un pattern Spitz tipo starburst;
- presenza di un pattern Spitz tipo globular;
- presenza di un pattern Spitz tipo homogeneous;
- presenza di un pattern Spitz tipo dotted;
- presenza di un pattern Spitz tipo reticular depigmentation;
- la presenza di un pattern multicomponent (presenza di più pattern Spitz singoli);

Oltre a ciò sono stati studiati anche pattern dermatoscopici riconducibili ad atipia come:

- atypical network;
- atypical globules;
- atypical striae;
- regression;
- structureless;
- blotches;
- vascular;

Infine abbiamo valutato anche il colore in dermoscopia di queste lesioni:

- presenza/tipologia marrone (light, medium o strong brown);
- presenza rosa;
- presenza grigio;

Le informazioni riguardo l'istopatologia comprendono:

- Shape, classificata come dome, plaque e wedge;

- pigmentation;
- transepidermal nests;
- maturation;
- desmoplasia;
- presenza di nidi lobulati;
- architettura plessiforme;
- iperplasia epidermica a filigrana;
- infiltrato infiammatorio (light, medium, strong);
- pleomorfismo cellulare (light, medium, strong);
- presenza di simmetria; citotipo, classificato come epitelioido (E), fusato (F) o come insieme dei due (EF);

Ulteriori parametri istopatologici quali pattern rosette-like, pseudo-verocay bodies, kamino bodies, componente a piccole cellule, syncytial arrangement ed ulceration non sono stati valutati in questo studio.

## 3.2 Analisi statistica

Le variabili categoriche sono state rappresentate con frequenze e percentuali, mentre le variabili continue sono state riassunte con medie, deviazioni standard (std), mediane, valori minimi e massimi e intervalli interquartili (IQR). Per valutare le differenze nelle variabili tra i tipi di nevi (AST versus non) sono stati impiegati il test del chi-quadro (o alternativamente il test esatto di Fisher) e il test t di Student (o alternativamente il test dei ranghi segnati di Wilcoxon). Inoltre, le relazioni tra le variabili sono state esaminate mediante l'uso di matrici di correlazione (a coefficienti definiti secondo formula di Pearson). Queste matrici sono state calcolate su due set di dati: uno includendo tutti i pazienti e restringendo alle variabili senza valori mancanti, l'altro includendo tutte le variabili ma restringendo ai pazienti con tutti i campi annotati. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato significativo. Tutte le manipolazioni dei dati, le analisi e le visualizzazioni sono state eseguite utilizzando R 4.2.2.



## Capitolo 4

### Risultati

#### 4.1 Caratteristiche demografiche

Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>età diagnosi</b>	Min / Max	16.0 / 65.0	13.0 / 73.0	13.0 / 73.0	0.0647
	Med (IQR)	42.0 (34.0;49.0)	37.0 (29.0;43.0)	39.0 (31.0;43.0)	
	Mean (std)	41.1 (11.0)	37.7 (12.8)	38.9 (12.2)	
	N (ND)	29 (0)	57 (0)	86 (0)	
<b>sesso</b>	M	6 (21%)	15 (26%)	21 (24%)	
	F	23 (79%)	42 (74%)	65 (76%)	
<b>localizzazione</b>	inferiore	13 (46.4%)	22 (39.3%)	35 (41.7%)	0.5159
	superiore	6 (21.4%)	15 (26.8%)	21 (25.0%)	
	tronco	7 (25.0%)	18 (32.1%)	25 (29.8%)	
	volto	2 (7.1%)	1 (1.8%)	3 (3.6%)	
	ND	1	1	2	

Tabella 4.1: Tabella delle caratteristiche demografiche

Sono stati studiati 86 pazienti con diagnosi di lesione spitzoide, che a seguito della valutazione istologica, sono stati descritti in 57 casi come nevi di Spitz e 29 casi come AST. La maggior parte dei pazienti nei due gruppi erano femmine 4.1, rispettivamente nel gruppo SN (n = 42, 74%) e nell'AST (n = 23 , 79% ), con un rapporto femmine/maschi di circa 2:1 per i nevi e di 3:1 negli AST. Il range dell'età nel gruppo SN è stato di 13-73 anni con una media di 37 anni, mentre, nel gruppo AST, di 16-65 anni con una media di 42 anni. La localizzazione anatomica è stata suddivisa attraverso quattro gruppi (volto; tronco; arti superiori; arti inferiori). La più comune delle quali è stata gli arti inferiori, sia nei nevi (n = 22, 39.3%) sia negli AST (n = 13, 46.4%). Seguivano poi rispettivamente il tronco (SN= 32.1% ; AST=

25.0%), arti superiori (SN= 26.8% ; AST= 21.4%) e la sede del volto (SN= 1.8% ; AST= 7.1%). I dati sulla localizzazione non sono stati disponibili per 2 lesioni.

## 4.2 Caratteristiche cliniche macroscopiche

Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>MACULA</b>	0	20 (69.0%)	15 (26.3%)	35 (40.7%)	0.0001
	1	9 (31.0%)	42 (73.7%)	51 (59.3%)	
<b>PAPULA</b>	0	9 (31.0%)	42 (73.7%)	51 (59.3%)	0.0001
	1	20 (69.0%)	15 (26.3%)	35 (40.7%)	
<b>DIMENSIONE MAX (mm)</b>	Min / Max	1.0 / 10.0	1.0 / 9.0	1.0 / 10.0	0.4072
	Med (IQR)	4.0 (3.0;5.0)	4.0 (3.0;6.0)	4.0 (3.0;5.8)	
	Mean (std)	4.2 (2.0)	4.5 (1.8)	4.4 (1.9)	
	N (ND)	29 (0)	57 (0)	86 (0)	
<b>AREA(mm2)</b>	Min / Max	1.0 / 50.0	1.0 / 45.0	1.0 / 50.0	0.5323
	Med (IQR)	15.0 (9.0;20.0)	16.0 (9.0;25.0)	15.5 (9.0;25.0)	
	Mean (std)	16.4 (12.4)	18.0 (12.4)	17.5 (12.3)	
	N (ND)	29 (0)	57 (0)	86 (0)	
<b>PIGMENTO</b>	0	7 (24.1%)	6 (10.5%)	13 (15.1%)	0.1174
	1	22 (75.9%)	51 (89.5%)	73 (84.9%)	

Tabella 4.2: Tabella delle caratteristiche macroscopiche

La maggior parte dei soggetti che presentava nevi di Spitz 4.2, sono stati identificati con un pattern macroscopico di macula (n=42, 73.7%), rispetto alla papula (n=15, 26,3%) con **p-value=0.0001**. Nel caso degli AST, invece, abbiamo riscontrato un andamento opposto, con un pattern a macula meno rappresentato (n=9, 31.0%) rispetto a quello di papula (n=20, 69.0%) con **p-value=0.0001**. Il range della dimensione massima della lesione, preso il lato/raggio più lungo di ciascuna lesione in mm, nel gruppo SN è stato di 1.0-9.0 mm con una media di 4.0 mm, mentre nel gruppo AST 1.0-10.0 mm con una media di 4.0 mm. Il range dell'area della lesione, espressa in mm<sup>2</sup>, nel gruppo SN è stato di 1.0-45.0 mm<sup>2</sup> con una media di 16.0 mm<sup>2</sup>, mentre nel gruppo AST 1.0-50.0 mm<sup>2</sup> con una media di 15.0 mm<sup>2</sup>. Infine la presenza di pigmentazione macroscopica, ovvero visibile ad occhio nudo, si è presentata nel gruppo dei nevi (n=51, 89.5%), mentre negli AST (n=22, 75,9%).

## 4.3 Caratteristiche dermatoscopiche

Per quanto riguarda la presenza o meno di un pattern spitzoide 4.3, descrivibile dalla presenza di uno o più dei 5 pattern presi in esame, è stato riscontrato in 36 su 57 nevi (63.2%) e in 10 su 29 AST (34.5%), con un **p-value del 0,0117**. Nello specifico il pattern starburst si è analizzato in 21 casi SN (36.8%), mentre in 7 casi AST



Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>PATTERN SPITZ</b>	0	19 (65.5%)	21 (36.8%)	40 (46.5%)	0.0117
	1	10 (34.5%)	36 (63.2%)	46 (53.5%)	
<b>STARBURST</b>	0	22 (75.9%)	36 (63.2%)	58 (67.4%)	0.2346
	1	7 (24.1%)	21 (36.8%)	28 (32.6%)	
<b>GLOBULAR</b>	0	26 (89.7%)	38 (66.7%)	64 (74.4%)	0.0209
	1	3 (10.3%)	19 (33.3%)	22 (25.6%)	
<b>HOMOGENEOUS</b>	0	29 (100.0%)	55 (96.5%)	84 (97.7%)	0.5477
	1	0 (0%)	2 (3.5%)	2 (2.3%)	
<b>DOTTED</b>	0	29 (100.0%)	54 (94.7%)	83 (96.5%)	0.5477
	1	0 (0%)	3 (5.3%)	3 (3.5%)	
<b>RETICULAR DEPIGMENTATION</b>	0	24 (82.8%)	44 (77.2%)	68 (79.1%)	0.5486
	1	5 (17.2%)	13 (22.8%)	18 (20.9%)	
<b>MULTICOMPONENT</b>	0	24 (82.8%)	35 (61.4%)	59 (68.6%)	0.0437
	1	5 (17.2%)	22 (38.6%)	27 (31.4%)	

Tabella 4.3: Tabella delle caratteristiche pattern Spitz

(24.1%). Il pattern globular si è identificato in 19 casi SN (33.3%), mentre in 3 casi AST (10.3%), con un **p-value del 0.0209**. Il pattern homogeneous si è presentato in solo 2 casi SN (3.5%), ma in nessun caso AST. Inoltre, similmente al precedente, anche il pattern dotted si è riscontrato in pochi casi, rispettivamente in 3 nevi (5.3%) e in nessun AST. Il reticular depigmentation, invece, è stato studiato in 13 casi SN (22.8%) e in 5 AST (17.2%). Un pattern multicomponent, tipicamente associato al reticular depigmentation + globular pattern, è stato individuato in 22 casi di nevi (38.6%) e in 5 AST (17.2%), con un **p-value di 0,0437**. Le caratteristiche

Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>ATYPICAL NETWORK</b>	0	21 (72.4%)	52 (91.2%)	73 (84.9%)	0.0287
	1	8 (27.6%)	5 (8.8%)	13 (15.1%)	
<b>ATYPICAL GLOBULES</b>	0	21 (72.4%)	56 (98.2%)	77 (89.5%)	0.0006
	1	8 (27.6%)	1 (1.8%)	9 (10.5%)	
<b>ATYPICAL STRIAE</b>	0	23 (79.3%)	57 (100.0%)	80 (93.0%)	0.0010
	1	6 (20.7%)	0 (0%)	6 (7.0%)	
<b>REGRESSION</b>	0	24 (82.8%)	56 (98.2%)	80 (93.0%)	0.0154
	1	5 (17.2%)	1 (1.8%)	6 (7.0%)	
<b>STRUCTURELESS</b>	0	19 (65.5%)	41 (71.9%)	60 (69.8%)	0.5404
	1	10 (34.5%)	16 (28.1%)	26 (30.2%)	
<b>BLOTCHES</b>	0	24 (82.8%)	57 (100.0%)	81 (94.2%)	0.0034
	1	5 (17.2%)	0 (0%)	5 (5.8%)	
<b>VASCULAR</b>	0	23 (79.3%)	57 (100.0%)	80 (93.0%)	0.0010
	1	6 (20.7%)	0 (0%)	6 (7.0%)	

Tabella 4.4: Tabella delle caratteristiche d'atipia

associabili ad un quadro d'atipia e quindi riscontrabili in lesioni tipicamente più maligne, sono state maggiormente evidenziate nel gruppo AST rispetto ai nevi di Spitz.

Prendendo come riferimento la tabella 4.4, l'atypical network è stato individuato in 5 SN (8.8%) contro gli 8 casi di AST (27.6%), con un **p-value di 0.0287**. L'atypical globules sono stati riscontrati in solamente 1 SN (1.8%) contro gli 8 casi di AST (27.6%), con **p-value di 0.0006**. L'atypical striae sono state segnalate in nessun caso SN, mentre lo erano in 6 casi di AST (20.7%), con **p-value di 0.0010**. Il pattern "regression" è stato evidenziato in 1 caso SN (1.8%), mentre in 5 AST (17.2%), **p-value del 0.0154**. Il pattern "structureless" è stato individuato in 16 SN (28.1%) contro 10 casi di AST (34.5%). Infine la presenza di "blotches" o del pattern "vascular" non sono stati riscontrati in nessun nevo preso in esame, mentre negli AST, rispettivamente, in 5 casi (17.2%) e in 6 casi (20.7%) con un **p-value di 0.0034 e 0.0010**. Per la valutazione dermatoscopica del colore, facciamo riferimento alla tabella 4.5. Il colore Marrone, è stato quello sicuramente più rappresentato, infatti, la sua assenza era solamente presente in 3 SN (5.3%) e in 3 AST (10.3%). Più nello specifico, la forma di marrone più riscontrata è stata il "medium brown" individuato in 31 SN (54.4%) e in 14 AST (48.3%), segue lo "strong brown" in 18 SN (31.6%) e in 8 AST (27.6%). Infine il "light brown" è stato riscontrato in 5 SN (8.8%) e in 4 AST (13.8%). Il colore rosa è risultato preponderante in 28 nevi (49.1%) contro gli 8 AST (27.6%). Il grigio, invece, è stato poco rappresentato sia nel SN con 7 casi (12.3%) sia negli AST con 4 casi (13.8%).

Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>BROWN (L/M/S)</b>	0	3 (10.3%)	3 (5.3%)	6 (7.0%)	0.6574
	1L	4 (13.8%)	5 (8.8%)	9 (10.5%)	
	1M	14 (48.3%)	31 (54.4%)	45 (52.3%)	
	1S	8 (27.6%)	18 (31.6%)	26 (30.2%)	
<b>PINK</b>	0	21 (72.4%)	29 (50.9%)	50 (58.1%)	0.0556
	1	8 (27.6%)	28 (49.1%)	36 (41.9%)	
<b>GREY</b>	0	25 (86.2%)	50 (87.7%)	75 (87.2%)	1.0000
	1	4 (13.8%)	7 (12.3%)	11 (12.8%)	

Tabella 4.5: Tabella del colore in dermatoscopia

## 4.4 Caratteristiche istopatologiche

Per la valutazione istopatologica, sono stati analizzati un totale di 40 pazienti sui 86 totali. Più nello specifico sono stati rivalutati 4 AST e 36 SN. Prendendo come riferimento la tabella 4.6, il primo parametro è stato lo "shape", ulteriormente sottoclassificato in "dome", "plaque" e "wedge". Per i nevi, 14 si sono configura-

Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>SHAPE (dome/wedge/plaque/nodular)</b>	Dome	1 (25.0%)	14 (38.9%)	15 (37.5%)	0.1801
	Plaque	0 (0%)	12 (33.3%)	12 (30.0%)	
	Wedge	3 (75.0%)	10 (27.8%)	13 (32.5%)	
	ND	25	21	46	
<b>PIGMENTATION</b>	0	0 (0%)	5 (13.9%)	5 (12.5%)	1.0000
	1	4 (100.0%)	31 (86.1%)	35 (87.5%)	
	ND	25	21	46	
<b>TRANSEPIDERMAL NESTS</b>	0	2 (50.0%)	13 (36.1%)	15 (37.5%)	0.6225
	1	2 (50.0%)	23 (63.9%)	25 (62.5%)	
	ND	25	21	46	
<b>MATURATION</b>	0	2 (50.0%)	28 (77.8%)	30 (75.0%)	0.2559
	1	2 (50.0%)	8 (22.2%)	10 (25.0%)	
	ND	25	21	46	
<b>DESMOPLASIA</b>	0	4 (100.0%)	28 (77.8%)	32 (80.0%)	0.5658
	1	0 (0%)	8 (22.2%)	8 (20.0%)	
	ND	25	21	46	

Tabella 4.6: Istopatologia: shape, pigmentation, transepidermal nest, maturation, desmoplasia

ti come "dome" (38.9%), 12 come "plaque" (33.3%) e 10 come "wedge" (27.8%), mentre negli AST 3 "wedge" e 1 "dome". La presenza di pigmentazione è stata identificata in tutti e 4 casi di AST, mentre in 31 SN (86.1%). L'identificazione di "transepidermal nests", di un pattern "maturation" e di "desmoplasia" sono stati presenti, rispettivamente, in 23 (63.9%), 8 (22.2%) e 8 (22.2%) casi di nevi, mentre in 2 (50%), 2(50%) e in nessun caso negli AST. Altri parametri, presenti nella tabella 4.7, come "nidi lobulati", "architettura plessiforme" e di "iperplasia epidermica a filigrana" sono stati identificati, rispettivamente, in 1 (2.8%), 2 (5.6%) e 11 (30.6%) casi di nevi, mentre in 1 (25%), nessuno e in 3 casi (75%) negli AST. La presenza di infiltrato infiammatorio, descritta come light (L), medium (M) e strong (S), nelle lesioni nevice è stata identificata in 21 casi come light (58.3%), 8 medium (22.2%) e 7 strong (19.4%), mentre negli AST 3 casi light (75%), 1 medium (25%) e nessun strong. Il citotipo, tabella 4.8, descritto come epitelioido (E), fusato (F) ed epitelioido+fusato (EF), nelle lesioni nevice è stato descritto in 17 casi come epitelioido (47.2%), 4 come fusato (11.1%) e 15 misti (41.7%), mentre negli AST 3 casi epitelioidi (75%), 1 misto (25%) e nessun fusato. La presenza di pleomorfismo cellulare, descritto come light (L), medium (M) e strong (S), nelle lesioni nevice è stato identificato in 10 casi come light (27.8%), 12 medium (33.3%) e 14 strong (38.9%), mentre negli AST 1 caso light (25%), 2 medium (50%) e 1 strong (25%). La presenza di simmetria è stata riscontrata in 27 SN (75%) e 2 AST (50%). Ulteriori parametri come "pattern rosette", "pseudo-verocay body", "kamino bodies", componente a piccole cellule, "syncytial arrangement" ed ulceration non sono stati analizzati.

Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>NIDI LOBULATI</b>	0	3 (75.0%)	35 (97.2%)	38 (95.0%)	0.1923
	1	1 (25.0%)	1 (2.8%)	2 (5.0%)	
	ND	25	21	46	
<b>ARCHITETTURA PLESSIFORME</b>	0	4 (100.0%)	34 (94.4%)	38 (95.0%)	1.0000
	1	0 (0%)	2 (5.6%)	2 (5.0%)	
	ND	25	21	46	
<b>IPERPLASIA EPIDERMICA "A FILIGRANA"</b>	0	1 (25.0%)	25 (69.4%)	26 (65.0%)	0.1145
	1	3 (75.0%)	11 (30.6%)	14 (35.0%)	
	ND	25	21	46	
<b>INFILTRATO INFIAMMATORIO (L/M/S)</b>	L	3 (75.0%)	21 (58.3%)	24 (60.0%)	1.0000
	M	1 (25.0%)	8 (22.2%)	9 (22.5%)	
	S	0 (0%)	7 (19.4%)	7 (17.5%)	
	ND	25	21	46	

Tabella 4.7: Istopatologia: nidi lobulati, architettura plessiforme, iperplasia epidermica a filigrana, infiltrato infiammatorio

Variable		AST (N = 29)	NEVO (N = 57)	Total (N = 86)	p-value
<b>CITOTIPO (epi+fus/epi/fus)</b>	E	3 (75.0%)	17 (47.2%)	20 (50.0%)	0.7505
	EF	1 (25.0%)	15 (41.7%)	16 (40.0%)	
	F	0 (0%)	4 (11.1%)	4 (10.0%)	
	ND	25	21	46	
<b>PLEOMORFISMO (L/M/S)</b>	L	1 (25.0%)	10 (27.8%)	11 (27.5%)	0.8231
	M	2 (50.0%)	12 (33.3%)	14 (35.0%)	
	S	1 (25.0%)	14 (38.9%)	15 (37.5%)	
	ND	25	21	46	
<b>SYMMETRY</b>	0	2 (50.0%)	9 (25.0%)	11 (27.5%)	0.3003
	1	2 (50.0%)	27 (75.0%)	29 (72.5%)	
	ND	25	21	46	

Tabella 4.8: Istopatologia: citotipo, pleomorfismo, simmetry

## 4.5 Matrici di correlazione

I seguenti grafici sono caratterizzati da matrici di correlazione delle variabili disponibili, in particolare il grafico 4.1 mostra quelle disponibili per tutti i pazienti della corte, mentre 4.2 evidenzia le variabili in studio solo sui pazienti per cui sono state tutte annotate. Dai grafici si può estrarre il coefficiente di correlazione per ciascuna coppia di variabili (valore riportato nelle celle). Il colore gradiente dà un'idea del verso e della forza:

- rosso (+) = associate positivamente;
- blu (-) = negativamente;
- bianco (o colori chiari) = non associate;

Più scuri i colori, maggiore l'associazione (e solitamente la significatività). Prendendo in analisi il grafico 4.3 possiamo trarre molte interessanti informazioni. Un

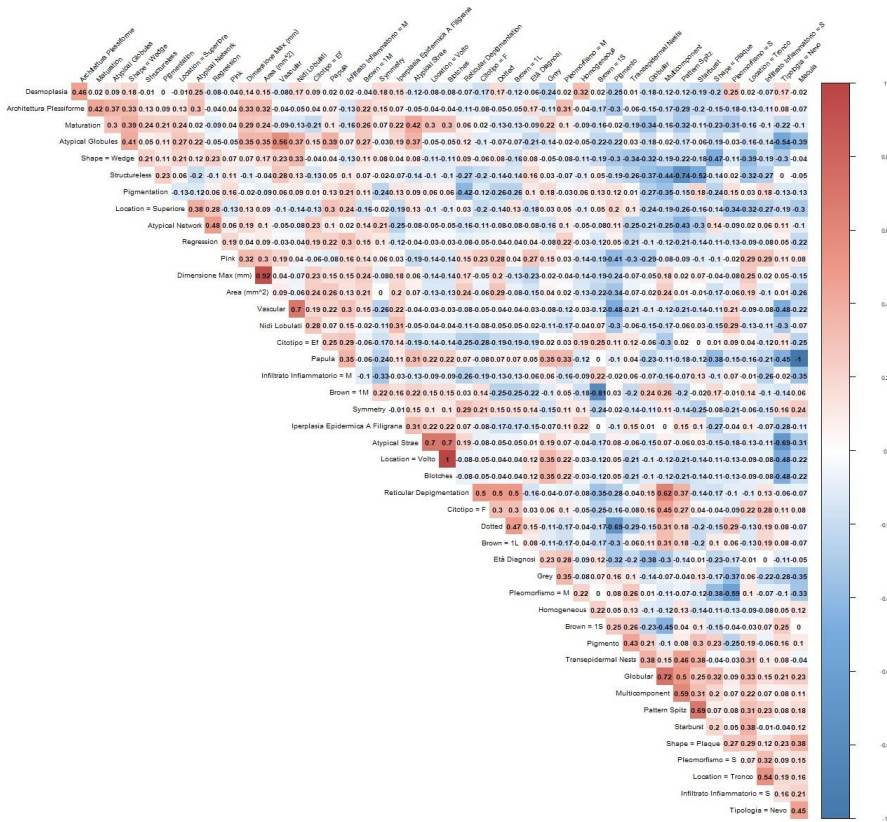


Figura 4.1: matrice di correlazione delle variabili disponibili per tutti i pz della coorte

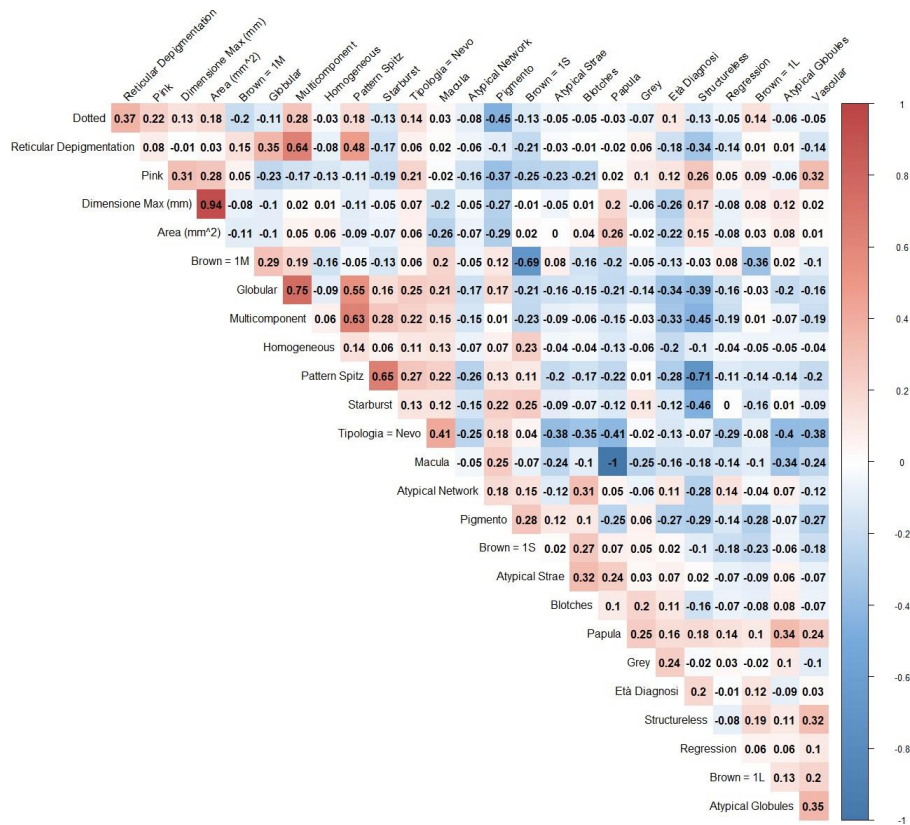


Figura 4.2: matrice di correlazione di tutte le variabili in studio, ma solo sui pz per cui sono tutte annotate

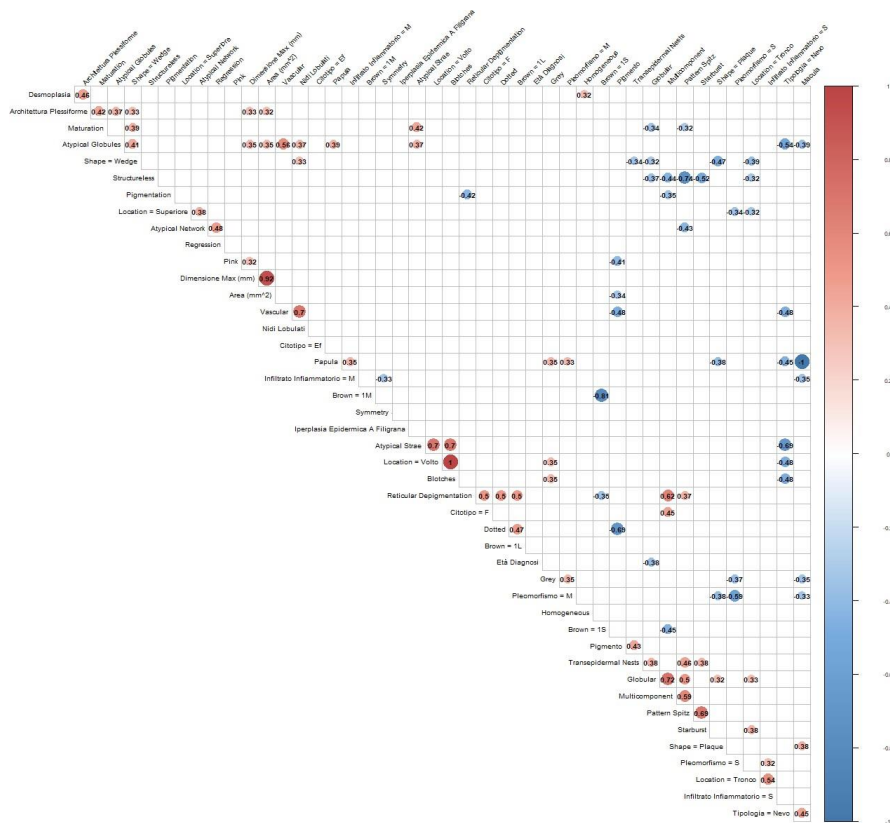


Figura 4.3: Versione del grafico 4.1 in cui sono lasciati solo i coefficienti significativi

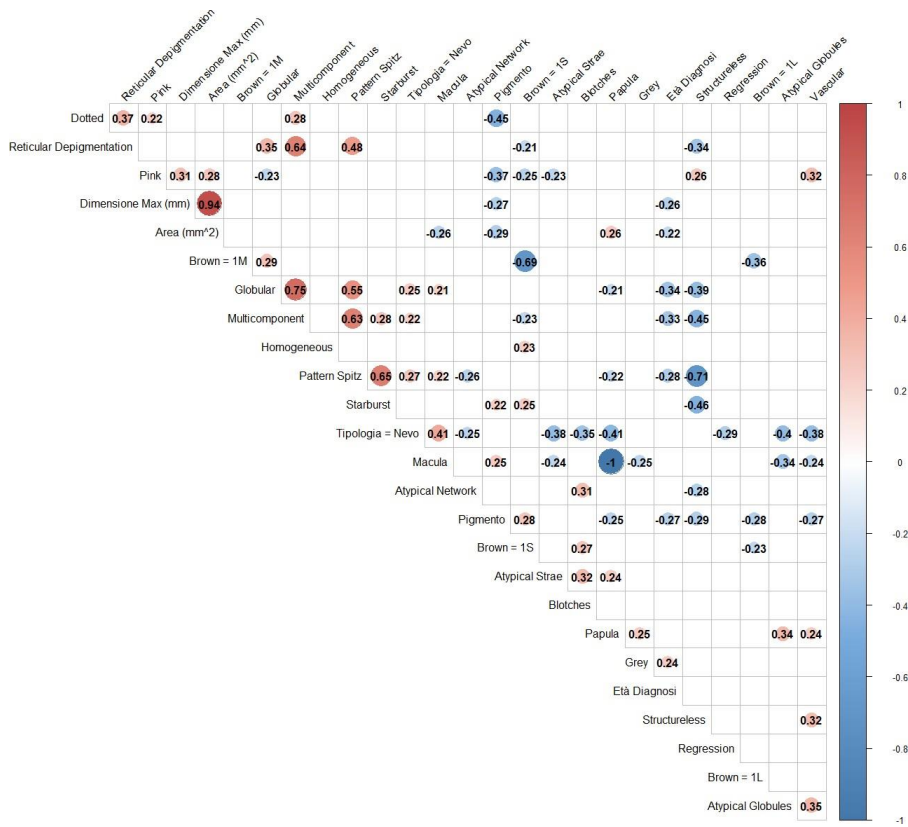


Figura 4.4: Versione del grafico 4.2 in cui sono lasciati solo i coefficienti significativi



importante coefficiente di correlazione, pari a 1, è stato riscontrato dall'associazione di una variabile demografica/macroskopica quale la "localizzazione volto" con quella dermoscopia "Blotches". Similmente è stata registrata un'analoga correlazione, con un coefficiente 0.7, tra la medesima localizzazione e un'ulteriore caratteristica d'atipia quale "atypical striae". Anche ulteriori caratteristiche atipiche sono state correlate fra di loro come "atypical globules" e "vascular" con coefficiente di 0.56. In relazione alla presenza di un pattern dermatoscopico di Spitz, è stato riscontrato un coefficiente di 0.69 con un modello starburst, di 0.59 con quello multicomponent, di 0.5 con quello globular ed infine 0.37 con il reticular depigmentation. Quest'ultimo si è presentato in associazione con un pattern multicomponent (coeff. correlazione = 0.62), con un modello "dotted vessels" (coeff. correlazione = 0.5) e con la presenza di un light brown alla dermoscopia (coeff. correlazione = 0.5). La presenza di un pattern globular in associazione al multicomponent, è stato correlato con un coefficiente pari a 0.72. Prendendo in esame le correlazioni delle varie caratteristiche istologiche, si è notata una buona associazione tra la presenza di nidi lobulati e la presenza di un pattern dermoscopico d'atipia come "vascular" (coeff. correlazione = 0.7). La presenza di un infiltrato infiammatorio "strong" è stata correlata con la localizzazione sul tronco con un coefficiente di 0.54. Un citotipo a cellule fusate si è presentato con un valore di 0.5 in associazione ad un pattern "reticular depigmentation". La presenza di transepidermal nests si è associata con l'identificazione di un pattern di Spitz (coeff. correlazione = 0.46), più specificamente con quello starburst e globular, in entrambi i casi con coefficiente di 0.38. Un infiltrato infiammatorio strong è stato correlato con valore 0.54 con la localizzazione sul tronco, mentre medium si è associato con coefficiente 0.35 con la presenza di papula. Il citotipo fusato si è presentato correlato al pattern multicomponent (coeff. correlazione = 0.45). In riferimento, invece, ai coefficienti di correlazione negativi, sono stati ottenuti molti dati soprattutto nelle associazioni tra caratteristiche clinico e dermoscopiche. La presenza di un nevo di Spitz è stato correlato in modo inversamente proporzionale con "atypical globules" (coeff. correlazione = - 0.54), "vascular" (coeff. correlazione = - 0.4), "atypical striae" (coeff. correlazione = - 0.69), "blotches" (coeff. correlazione = - 0.48). Inoltre si è presentato con un valore di - 0.48 in associazione con la localizzazione a livello del volto. La presenza di un pattern di Spitz è stato correlato con un valore di - 0.74 con il pattern atipico di "structureless". Il criterio istologico "pigmentation" è stato correlato con valore -0.42 rispetto al "reticular depigmentation". L'identificazione di pigmentazione macroscopica è stato associato negativamente con un pattern "dotted" (coeff. cor-

relazione = - 0.69), analogamente anche ad una colorazione rosa (-0.41) e al pattern atipico "vascular" (-0.48). Infine la più importante correlazione negativa è stata registrata dal rapporto tra la presenza di un "medium" rispetto ad uno "strong" marrone (coeff. correlazione = - 0.81). I valori presenti nel grafico 4.4 poco si sono discostati da quelli che abbiamo precedentemente preso in analisi.

## Capitolo 5

### Discussione

Le lesioni Spitzoidi sono un'ampia classe di lesioni melanocitiche, non così infrequenti, che comprende il nevo di Spitz (SN), il tumore di Spitz atipico (AST) e il melanoma spitzoide (SM). Poichè queste lesioni presentano una notevole somiglianza clinica, è molto importante prevederne il comportamento biologico, soprattutto attraverso l'istopatologia. Il termine "tumore Spitz atipico" non è stato ancora chiaramente definito: la motivazione verte sul fatto che sia tale terminologia può essere usata per quelle lesioni difficili da inquadrare nelle altre due classi sia può descrivere una lesione intermedia, derivata dalla progressione dal nevo ad un vero e proprio melanoma. La gestione nella pratica clinica quotidiana è spesso difficoltosa, necessitando di approcci integrativi, soprattutto con tecniche di biologia molecolare. La diagnosi delle lesioni Spitzoidi rappresenta ancora oggi una sfida per molti dermatologi, ma anche per i dermatopatologi più esperti. Tuttavia, negli ultimi decenni, è cresciuta la volontà di definire items diagnostici che possano aiutare i medici a riconoscere queste lesioni e a sospettare la loro malignità. Un appropriato sospetto è cruciale per allertare i patologi e a guidarli verso una diagnosi corretta. Infatti lo scopo principale dello studio consiste nel individuare la presenza di specifici patterns macroscopici, dermatoscopici ed istologici sia in lesioni spitzoidi benigne sia in lesioni a potenziale maligno incerto (AST). Nel nostro studio abbiamo valutato 86 pazienti con diagnosi di lesione melanocitica spitzoide, che a seguito della valutazione istologica, sono stati classificati come 57 casi nevi di Spitz e 29 casi come AST. Nella nostra analisi sono state valutate 4 macro-caratteristiche: demografiche, clinico macroscopiche, dermoscopiche ed istologiche. La maggior parte dei nostri pazienti, in entrambi i gruppi, sono risultati femmine 4.1, rispettivamente nel gruppo SN (n = 42, 74%) e nell'AST (n = 23 , 79% ), con un rapporto femmine/maschi di circa 2:1 per i nevi e di 3:1 negli AST. Questo dato non sembra trovare conferma

nella letteratura che descrive una ugual prevalenza di lesioni Spitzoidi tra maschi e femmine (35)(36). Una lieve prevalenza, nei soggetti di sesso femminile in età fertile, è stata riportata anche in altre casistiche (36). Questo dato potrebbe essere motivato da una maggior attenzione verso il lato estetico di questa categoria di pazienti rispetto alla controparte maschile, ma anche dal possibile ruolo degli estrogeni nell'eziopatogenesi delle lesioni Spitzoidi. Infatti uno studio italiano (201), promosso dall'università campo bio-medico di Roma, ha evidenziato come i nevi di Spitz esprimevano maggiormente il recettore beta-estrogeni rispetto ai nevi melanocitari comuni e ai melanomi. Il range dell'età nel gruppo SN è stato dai 13-73 anni con una media di 37 anni, mentre nel gruppo AST 16-65 anni con una media di 42 anni. Queste lesioni, infatti, si sviluppano tipicamente in età pediatrica/giovani adulti, seppur tutte le fasce di età possono essere influenzate. La letteratura è concorde in merito e da diversi studi si è visto che circa il 40% delle lesioni Spitzoidi appaiono prima dei quindici anni, il 77% prima dei trent'anni, mentre negli individui più anziani, la presenza di queste lesioni è abbastanza rara (31)(32). In merito alla localizzazione anatomica, la sede più comune è stata rappresentata dagli arti inferiori, sia nei nevi ( $n = 22, 39.3\%$ ) sia negli AST ( $n = 13, 46.4\%$ ). Seguivano poi rispettivamente il tronco (SN= 32.1% ; AST= 25.0%), arti superiori (SN= 26.8% ; AST= 21.4%) e la sede del volto (SN= 1.8% ; AST= 7.1%). Anche in questo caso i nostri dati sono stati in linea con la letteratura (36). Uno studio che ha confrontato 110 casi di SN ha evidenziato, che il 47,3% era localizzato alle estremità inferiori, il 20% all'estremità superiori, il 19,9% sul tronco ed il 4,5% a livello del distretto testa/collo (41). Dal grafico 4.3 è stata ottenuta una forte associazione tra la variabile "localizzazione volto" con quella dermoscopica "Blotches" (coefficiente di correlazione = 1). Similmente è stata riscontrata, con un coefficiente 0.7, anche con un'ulteriore caratteristica d'atipia quale "atypical striae". Altra correlazione, questa volta negativa, è stata identificata tra la localizzazione a livello del volto e la diagnosi di "nevo" (coefficiente di correlazione = - 0.48). Questi valori ci possono suggerire come la localizzazione a livello del distretto testa/collo di una lesione spitzoide, sia un fattore che deve invitare il clinico ad un approccio più guardingo. Il distretto testa-collo è considerato nell'adulto, da alcuni studi, come una sede caratteristica di lesione più a carattere maligno, come descritto in diversi studi come (21), dove sia AST sia melanomi si sono presentati in quota maggiore a livello di tale distretto. La maggior parte dei nevi di Spitz 4.2, sono stati identificati con un pattern macroscopico di macula ( $n=42, 73.7\%$ ), rispetto alla papula ( $n=15, 26,3\%$ ). Nel caso degli AST, invece, è stato riscontrato un andamento opposto con un pattern a macula meno rappresentato

(n=9, 31.0%) rispetto a quello di papula (n=20, 69.0%). In entrambi i casi è stata raggiunta ampiamente la significatività statistica. Dalla matrice di correlazione sono stati ottenuti diversi dati, come l'associazione positiva tra la diagnosi di nevo e il pattern di macula (coefficiente di correlazione = 0.45). Questi dati sono importanti per il clinico in quanto l'evidenziare un pattern di macula può già suggerire l'interfacciarsi con una lesione benigna mentre la presenza di una lesione a papula deve portare al sospetto di una lesione più a carattere maligno. Il range della dimensione massima e dell'area, come anche gli stessi valori medi, sono risultati sovrapponibili nei 2 gruppi. Rispetto alla nostra casistica, in letteratura le dimensioni delle lesioni spitzoidi sono maggiori, infatti viene definito come le dimensioni raggiunte da un nevo di Spitz siano dell'ordine dei 5-6mm, mentre negli AST si raggiungono dimensioni fino a 10mm (36). Dai nostri dati le dimensioni non sono risultate un criterio che permette di predire la benignità/malignità di una lesione. Questi risultati possono però presentare diversi fattori confondenti come il fatto che il centro IOV, che gestisce la diagnosi/asportazione di queste lesioni, risulta essere un centro di 3° livello, per cui l'esperienza e gli strumenti a disposizione permettono una migliore valutazione anche per le lesioni di più piccole dimensioni. Inoltre, ulteriore fattore confondente, può essere riscontrabile dal fatto che, una buona parte di questi pazienti della nostra casistica, fossero già seguiti dal centro per anamnesi positiva di un precedente melanoma e per cui il clinico può essere stato maggiormente spinto ad asportare "precocemente" queste lesioni. Questo potrebbe spiegare anche la sola presenza di lesioni maculari e papulari e l'assenza di nodulari o placche. Nella nostra casistica, la maggior parte delle lesioni spitzoidi si è presentata con pigmentazione macroscopicamente dimostrabile, in particolare nel gruppo dei nevi (n=51, 89.5%), mentre negli AST (n=22, 75,9%). I nostri dati, in questo caso, sono risultati essere in contrasto con la letteratura nella quale vengono descritti numerosi casi di lesioni spitzoidi apigmentate. In letteratura il colore dei nevi di Spitz, varia dal rosato al rosso, a causa dell'elevata vascolarizzazione e dal basso contenuto di melanina, mentre solo circa nel 10% delle lesioni è presente una pigmentazione con colore marrone prevalente(21)(37). A causa dell'elevato numero di lesioni pigmentate nella nostra casistica, è stato osservato una ridotta presenza dei pattern dermatoscopici tipici delle lesioni apigmentate, come la presenza di colore rosa alla dermatoscopia (coeff. = -0.41), pattern "vascular" (coeff. = -0.48) e a quello spitzoide "dotted" (coeff. = -0.69). Si segnala, però, come il pattern "reticular depigmentation", che spesso si riscontra anche nelle lesioni apigmentate, non si è presentato nè con correlazione negativa nè positiva con la pigmentazione macroscopica. La presenza o meno di

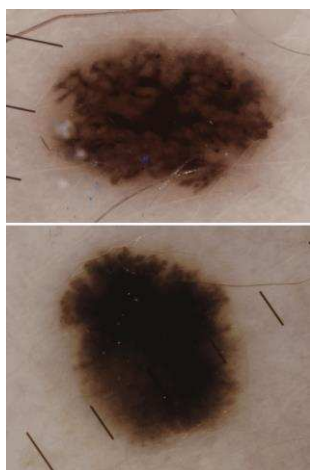


Figura 5.1: Pattern starburst in 2 casi SN dello studio

un pattern dermatoscopico spitzoide, descrivibile dalla presenza di uno o più dei 5 pattern singoli presi in esame (starburst, globular, homogeneous, dotted, reticular depigmentation), è stato riscontrato in 36 su 57 nevi (63.2%) e in 10 su 29 AST (34.5%), con una differenza statisticamente significatività tra i 2 gruppi. Dall'analisi attraverso le matrici di correlazione, non è stata riscontrata una chiara associazione tra la presenza di un pattern spitzoide classico e la diagnosi di nevo. Nello specifico i patterns spitzoidi più frequentemente riscontrati sono stati in ordine lo starburst (coeff. = 0.69), multicomponent (coeff. = 0.59), globular (coeff. = 0.5) e il reticular depigmentation (coeff. = 0.37), mentre il pattern dotted e homogeneous risultavano essere poco rappresentati. I risultati sono, in parte, in linea con la letteratura, in quanto la maggior parte dei nevi di Spitz mostra un pattern starburst 5.1 (41). Le prevalenze riguardanti gli altri pattern spitzoidi sono meno coerenti tra i vari studi, tuttavia i patterns dotted vessels e globular, sono frequentemente osservati in letteratura, seppur meno dello starburst (47). Nella nostra casistica, il pattern dotted è

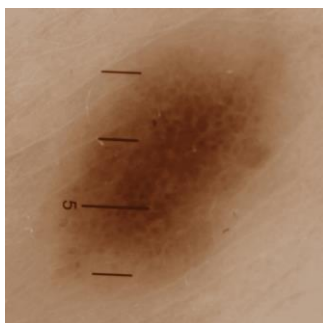


Figura 5.2: Pattern multicomponent SN: globular + reticular depigmentation

risultato essere tra i meno rappresentati sia negli SN sia negli AST, poichè nel nostro

studio le lesioni apigmentate sono state in numero ridotto. Nella nostra casistica il pattern multicomponent, si è associato tipicamente a quello globular (coeff. = 0.72) e al reticular depigmentation (coeff. = 0.62) 5.2, indicando che, tra i pattern spitzoidi, questi sono risultati essere quelli che maggiormente si sono presentati assieme. Un dato interessante, ottenuto dalle matrici di correlazione, ha messo in evidenza come la presenza di un pattern di spitzoide tipico correla negativamente con patterns d'atipia, tra cui lo structureless (coeff. = - 0.74) e l'atypical network (-0.43). Questi dati, nel loro insieme, suggeriscono che la presenza di un pattern spitzoide tipico correla con una maggior probabilità di lesione spitzoide benigna (SN), mentre le caratteristiche d'atipia sono maggiormente associate ad AST, con l'eccezione dello structureless, che è stato riscontrato anche nei nevi. Quindi, la presenza di segni d'atipia, con o meno associato un pattern spitzoide, deve mettere in guardia il clinico per il sospetto di malignità, soprattutto quando ne vengono riscontrate multiple nella stessa lesione. Infatti, abbiamo evidenziato come spesso più caratteristiche d'atipia si sono presentate assieme nella medesima lesione. Un'importante correlazione è stata riscontrata tra "atypical striae" e "blotches" (coeff. = 0.7), come anche "atypical globules" e "vascular" (coeff. = 0.56) o tra "atypical network" e "regression" (coeff. = 0.48). Nella nostra casistica non è stata riscontrata nè la presenza di blue white veil nè di white shiny streaks che, in letteratura, come evidenziato nel lavoro di Tognetti, et al. (202), aiutano a discriminare un melanoma rispetto ad un nevo sospetto. Abbiamo descritto, invece, la presenza dell'atypical network, che a sua volta, è riconosciuto come una caratteristica tipica di melanoma. Nel complesso, una diagnosi dermoscópica specifica dello spettro spitzoide è ancora difficile, dal momento che esiste un'elevata variabilità tra le presentazioni cliniche delle varie lesioni, oltre che la qualità delle immagini disponibili non ha consentito di trarre conclusioni solide, ma solo di fornire alcuni indizi diagnostici. Tuttavia, escludendo le lesioni che imitano da vicino un quadro di melanoma classico con un modello che include caratteristiche quali atypical network, blue white veil e white shiny streaks, riteniamo che si debba prestare particolare attenzione all'identificazione di possibili pattern spitzoidi, oltre che le caratteristiche d'atipia trattate precedentemente, soprattutto se associate tra loro. L'evoluzione nel tempo della lesione può essere un importante indizio aggiuntivo per sollevare il sospetto, seppur tale parametro non è stato considerato nello studio. In merito ai parametri istologici, abbiamo fatto riferimento a 40 pazienti su 86 totali. Dalla letteratura, le caratteristiche più comuni negli SN sono la maturazione, la simmetria, la distribuzione regolare dei melanociti (61), mentre la diagnosi degli AST è più controversa, in quanto ci si rapporta con caratte-

ristiche intermedie tra lesioni benigne e maligne. Molte delle diagnosi si basano su almeno una o più reperti istopatologici atipici. Da uno studio che ha confrontato 50 casi pediatrici AST con 20 casi pediatrici SN, gli AST significativamente correlavano con l'aumento del tasso mitotico, la presenza di mitosi atipiche, il pleomorfismo nucleare, l'elevato rapporto nucleo/citoplasma, l'assenza di maturazione e la presenza di asimmetria. Dalla nostra casistica la simmetria sembra essere associata ad una maggior tendenza di benignità, in linea con quanto presente anche in letteratura. L'assenza di desmoplasia nei casi SN sembra essere correlata anch'essa con benignità, in quanto nel 77.8% non è stata riscontrata. Il nevo Spitz è classicamente considerato povero nella pigmentazione, tuttavia, a volte può avere un'abbondante melanina, come nel caso del nevo di Reed. Nonostante ciò i nostri risultati, diversamente da quanto presente in letteratura, hanno confermato un'elevata percentuale di lesioni pigmentate come già evidenziato dal punto di vista clinico/macroscopico. La distribuzione della melanina è un criterio prezioso per la diagnosi differenziale tra nevo di Spitz e melanoma perché, quando è presente, la sua distribuzione è quasi sempre regolare e superficiale nel nevo, mentre è irregolare e profonda nella controparte maligna (36). La presenza dell'infiltrato infiammatorio "light" negli SN è stato in linea con quanto descritto in letteratura. Analogamente alla pigmentazione, lo studio della distribuzione dell'infiltrato infiammatorio rappresenta la chiave per la diagnosi differenziale, in quanto è diffuso uniformemente su tutta la lesione nelle lesioni benigne, mentre predomina sul fondo della neoplasia nelle forme maligne. Seppur dall'analisi con le matrici di correlazione, sono state evidenziate la presenza di possibili associazioni tra parametri dermatoscopici ed istologici, il basso campione di lesioni AST analizzate dal punto di vista istologico non ci ha permesso di trarre conclusioni significative.

## 5.1 Punti di forza e limiti dello studio

Il maggior punto di forza dello studio è stata l'originalità, in quanto sono presenti pochissimi lavori riguardo la correlazione clinico macroscopiche/dermoscopiche dello spettro spitzoide. Il nostro è studio pilota che andrà implementato soprattutto con le analisi istologiche delle lesioni rimaste "non diagnosticate". Inoltre l'obiettivo futuro è quello d'analizzare le caratteristiche molecolari per poi correlarle con le altre prese in esame.



## Capitolo 6

### Conclusioni

In conclusione, sebbene il nevo di Spitz sia stato originariamente descritto circa 70 anni fa, ci sono ancora molte insidie per una diagnosi accurata e per la sua diagnosi differenziale all'interno dello spettro spitzoide, soprattutto con il tumore di Spitz atipico. Sebbene le recenti analisi molecolari possano essere utili per la diagnosi differenziale, l'istopatologia convenzionale rimane, ad oggi, la tecnica gold standard per la diagnosi. Nel nostro studio, è stato descritto come queste lesioni siano più frequenti nelle donne rispetto agli uomini, soprattutto in età fertile. In accordo con la letteratura, la localizzazione più comune è stata a livello degli arti inferiori, mentre il volto sembra essere associato alla presenza di maggiori caratteristiche d'atipia. Dal punto di vista macroscopico, la presenza di una macula è stata correlata maggiormente con una lesione benigna, mentre la papula con un AST. In contrasto con la letteratura, la maggior parte delle lesioni sono risultate pigmentate. Dal punto di vista dermatoscopico, l'evidenza di un pattern spitzoide classico si è associato alla presenza di benignità, mentre la compresenza di caratteristiche atipia è stata associata con la maggior probabilità di AST. I pattern spitzoidi tipici più presenti sono stati, in ordine: starburst, multicomponent, globular e reticular depigmentation. D'altro canto le caratteristiche d'atipia più frequenti sono state: structureless, atypical globules e atypical network. Da un punto di vista istopatologico, la scarsità dei campioni studiati, non ha permesso di raggiungere la significatività statistica nel confronto tra SN e AST, seppur da questa nostra iniziale valutazione, molti dei dati studiati siano in linea con quelli presenti in letteratura. In futuro, la raccolta di ulteriori dati, sia istologici che molecolari, permetterà di definire più precisamente eventuali correlazioni clinico/istologiche, che sono già emerse nella nostra analisi, ma che devono essere riconfermate da una casistica più ampia e più completa.



## Bibliografia

- [1] G. Prota, *Melanins and melanogenesis*. Academic Press, 2012.
- [2] M. d'Ischia, K. Wakamatsu, F. Cicoira et al., «Melanins and melanogenesis: from pigment cells to human health and technological applications,» *Pigment cell & melanoma research*, vol. 28, n. 5, pp. 520–544, 2015.
- [3] P. M. Plonka, T. Passeron, M. Brenner et al., «What are melanocytes really doing all day long...?» *Experimental dermatology*, vol. 18, n. 9, pp. 799–819, 2009.
- [4] M. Tachibana, «Sound needs sound melanocytes to be heard,» *Pigment cell research*, vol. 12, n. 6, pp. 344–354, 1999.
- [5] F. C. Brito e L. Kos, «Timeline and distribution of melanocyte precursors in the mouse heart,» *Pigment cell & melanoma research*, vol. 21, n. 4, pp. 464–470, 2008.
- [6] D.-N. Hu, J. D. Simon e T. Sarna, «Role of ocular melanin in ophthalmic physiology and pathology,» *Photochemistry and photobiology*, vol. 84, n. 3, pp. 639–644, 2008.
- [7] M. Randhawa, T. Huff, J. C. Valencia et al., «Evidence for the ectopic synthesis of melanin in human adipose tissue,» *The FASEB Journal*, vol. 23, n. 3, p. 835, 2009.
- [8] R. Happle, «What is a Nevus: A Proposed Definition of a Common Medical Term,» *Dermatology*, vol. 191, n. 1, pp. 1–5, 1995.
- [9] A. Albino, G. Sozzi, D. Nanus, S. Jhanwar e A. Houghton, «Malignant transformation of human melanocytes: induction of a complete melanoma phenotype and genotype.,» *Oncogene*, vol. 7, n. 11, pp. 2315–2321, 1992.
- [10] M. Berwick e A. Halpern, «Melanoma epidemiology,» *Current opinion in oncology*, vol. 9, n. 2, pp. 178–182, 1997.

- [11] A. N. Houghton e D. Polsky, «Focus on melanoma,» *Cancer cell*, vol. 2, n. 4, pp. 275–278, 2002.
- [12] A. Herzum, C. Occella, V. G. Vellone et al., «Paediatric Spitzoid Neoplasms: 10-Year Retrospective Study Characterizing Histological, Clinical, Dermoscopic Presentation and FISH Test Results,» *Diagnostics*, vol. 13, n. 14, p. 2380, 2023.
- [13] E. Dika, G. M. Ravaoli, P. A. Fanti, I. Neri e A. Patrizi, «Spitz nevi and other spitzoid neoplasms in children: overview of incidence data and diagnostic criteria,» *Pediatric Dermatology*, vol. 34, n. 1, pp. 25–32, 2017.
- [14] G. Ferrara, R. Gianotti, S. Cavicchini, T. Salviato, I. Zalaudek e G. Argenziano, «Spitz nevus, Spitz tumor, and spitzoid melanoma: a comprehensive clinicopathologic overview,» *Dermatologic clinics*, vol. 31, n. 4, pp. 589–598, 2013.
- [15] D. Bartenstein, J. Fisher, C Stamoulis et al., «Clinical features and outcomes of spitzoid proliferations in children and adolescents,» *British Journal of Dermatology*, vol. 181, n. 2, pp. 366–372, 2019.
- [16] R. L. Barnhill, «The Spitzoid lesion: rethinking Spitz tumors, atypical variants, ‘Spitzoid melanoma’ and risk assessment,» *Modern pathology*, vol. 19, S21–S33, 2006.
- [17] S. Spitz, «Melanomas of childhood,» *The American journal of pathology*, vol. 24, n. 3, p. 591, 1948.
- [18] A. C. Allen e S. Spitz, «Malignant melanoma: a clinicopathological analysis of the criteria for diagnosis and prognosis,» *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 11, n. 6, pp. 512–513, 1953.
- [19] H. E. McWhorter e L. B. Woolner, «Pigmented nevi, juvenile melanomas, and malignant melanomas in children,» *Cancer*, vol. 7, n. 3, pp. 564–585, 1954.
- [20] A. Spatz e R. L. Barnhill, «The Spitz tumor 50 years later: revisiting a landmark contribution and unresolved controversy,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 40, n. 2, pp. 223–228, 1999.
- [21] R. L. Barnhill, T. J. Flotte, M. Fleischli e A. Perez-Atayde, «Cutaneous melanoma and atypical Spitz tumors in childhood,» *Cancer*, vol. 76, n. 10, pp. 1833–1845, 1995.

- [22] A. S. Yazdi, G. Palmedo, M. J. Flaig et al., «Mutations of the BRAF gene in benign and malignant melanocytic lesions,» *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 121, n. 5, pp. 1160–1162, 2003.
- [23] M. C. F. van Dijk, M. R. Bernsen e D. J. Ruiter, «Analysis of mutations in B-RAF, N-RAS, and H-RAS genes in the differential diagnosis of Spitz nevus and spitzoid melanoma,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 29, n. 9, pp. 1145–1151, 2005.
- [24] H. Davies, G. R. Bignell, C. Cox et al., «Mutations of the BRAF gene in human cancer,» *Nature*, vol. 417, n. 6892, pp. 949–954, 2002.
- [25] T. Wiesner, J. He, R. Yelensky et al., «Kinase fusions are frequent in Spitz tumours and spitzoid melanomas,» *Nature communications*, vol. 5, n. 1, p. 3116, 2014.
- [26] I. Yeh, M. K. Tee, T. Botton et al., «NTRK3 kinase fusions in Spitz tumours,» *The Journal of pathology*, vol. 240, n. 3, pp. 282–290, 2016.
- [27] T. Wiesner, H. Kutzner, L. Cerroni, M. C. Mihm Jr, K. J. Busam e R. Murali, «Genomic aberrations in spitzoid melanocytic tumours and their implications for diagnosis, prognosis and therapy,» *Pathology*, vol. 48, n. 2, pp. 113–131, 2016.
- [28] S. Newman, L. Fan, A. Pribnow et al., «Clinical genome sequencing uncovers potentially targetable truncations and fusions of MAP3K8 in spitzoid and other melanomas,» *Nature medicine*, vol. 25, n. 4, pp. 597–602, 2019.
- [29] T. Kervarrec, D. Pissaloux, F. Tirode et al., «Morphologic features in a series of 352 Spitz melanocytic proliferations help predict their oncogenic drivers,» *Virchows Archiv*, vol. 480, n. 2, pp. 369–382, 2022.
- [30] S. H. Swerdlow, E. Campo, N. L. Harris et al., *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. International agency for research on cancer Lyon, France, 2008, vol. 2.
- [31] S. J. Hill e K. A. Delman, «Pediatric melanomas and the atypical spitzoid melanocytic neoplasms,» *The American journal of surgery*, vol. 203, n. 6, pp. 761–767, 2012.
- [32] D Weedon e J. Little, «Spindle and epithelioid cell nevi in children and adults. A review of 211 cases of the Spitz nevus,» *Cancer*, vol. 40, n. 1, pp. 217–225, 1977.

- [33] P. A. Herreid e P. E. Shapiro, «Age distribution of Spitz nevus vs malignant melanoma,» *Archives of dermatology*, vol. 132, n. 3, pp. 352–353, 1996.
- [34] A. M. Cesinaro, M. Foroni, P. Sighinolfi, M. Migaldi e G. P. Trentini, «Spitz nevus is relatively frequent in adults: a clinico-pathologic study of 247 cases related to patient's age,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 27, n. 6, pp. 469–475, 2005.
- [35] A. C. Berlingeri-Ramos, A. Morales-Burgos, J. L. Sánchez e E. M. Nogales, «Spitz nevus in a Hispanic population: a clinicopathological study of 130 cases,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 32, n. 3, pp. 267–275, 2010.
- [36] C. Requena, L. Requena, H. Kutzner e E. S. Yus, «Spitz nevus: a clinicopathological study of 349 cases,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 31, n. 2, pp. 107–116, 2009.
- [37] J. P. Lott, J. Wititsuwannakul, J. J. Lee et al., «Clinical characteristics associated with Spitz nevi and Spitzoid malignant melanomas: the Yale University Spitzoid Neoplasm Repository experience, 1991 to 2008,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 71, n. 6, pp. 1077–1082, 2014.
- [38] Y. I. Farid e K. S. Honda, «Spitz nevi in African Americans: A retrospective chart review of 11 patients,» *Journal of Cutaneous Pathology*, vol. 48, n. 4, pp. 511–518, 2021.
- [39] A. Adekun, G. Onyekaba e J. B. Lipoff, «Skin color in dermatology textbooks: an updated evaluation and analysis,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 84, n. 1, pp. 194–196, 2021.
- [40] T. W. Cheng, M. C. Ahern e A. Giubellino, «The spectrum of spitz melanocytic lesions: From morphologic diagnosis to molecular classification,» *Frontiers in Oncology*, vol. 12, p. 889 223, 2022.
- [41] E. Moscarella, A. Lallas, A. Kyrgidis et al., «Clinical and dermoscopic features of atypical Spitz tumors: A multicenter, retrospective, case-control study,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 73, n. 5, pp. 777–784, 2015.
- [42] O. M. Davies, J. Majerowski, A. Segura, S. W. Kelley, O. Sokumbi e S. R. Humphrey, «A sixteen-year single-center retrospective chart review of Spitz nevi and spitzoid neoplasms in pediatric patients,» *Pediatric Dermatology*, vol. 37, n. 6, pp. 1073–1082, 2020.

- [43] G. Argenziano, M. Agozzino, E. Bonifazi et al., «Natural evolution of Spitz nevi,» *Dermatology*, vol. 222, n. 3, pp. 256–260, 2011.
- [44] A. Steiner, H. Pehamberger, M. Binder e K. Wolff, «Pigmented Spitz nevi: improvement of the diagnostic accuracy by epiluminescence microscopy,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 27, n. 5, pp. 697–701, 1992.
- [45] B. E. Tlougan, S. J. Orlow e J. V. Schaffer, «Spitz nevi: beliefs, behaviors, and experiences of pediatric dermatologists,» *JAMA dermatology*, vol. 149, n. 3, pp. 283–291, 2013.
- [46] L Sainz-Gaspar, J Sánchez-Bernal, L Noguera-Morel, A Hernández-Martín, I Colmenero e A Torrelo, «Spitz Nevus and Other Spitzoid Tumors in Children—Part 1: Clinical, Histopathologic, and Immunohistochemical Features,» *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*, vol. 111, n. 1, pp. 7–19, 2020.
- [47] A Lallas, Z Apalla, D Ioannides et al., «Update on dermoscopy of Spitz/Reed naevi and management guidelines by the International Dermoscopy Society,» *British Journal of Dermatology*, vol. 177, n. 3, pp. 645–655, 2017.
- [48] G. Argenziano, M. Scalvenzi, S. Staibano et al., «Dermatoscopic pitfalls in differentiating pigmented Spitz naevi from cutaneous melanomas,» *British Journal of Dermatology*, vol. 141, n. 5, pp. 788–793, 1999.
- [49] A Ritter, M Tronnier, B Vaske e C Mitteldorf, «Reevaluation of established and new criteria in differential diagnosis of Spitz nevus and melanoma,» *Archives of Dermatological Research*, vol. 310, pp. 329–342, 2018.
- [50] E Soura, A Dimitrakopoulou, E Christofidou, A Katoulis, C Antoniou e A Stratigos, «Patients with Spitz naevi in the Greek population: Epidemiologic, Clinical and Histopathological characteristics,» *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, vol. 32, n. 7, pp. 1128–1137, 2018.
- [51] G. C. Verardino e M. C. Rochael, «Spitz nevi in the classic histopathological pattern-lamb in wolfs clothing,» *Anais Brasileiros de Dermatologia*, vol. 90, pp. 91–95, 2015.
- [52] H. Kamino, E. Misheloff, A. B. Ackerman, T. J. Flotte e M. A. Greco, «Eosinophilic globules in Spitz's nevi: new findings and a diagnostic sign,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 1, n. 4, pp. 323–324, 1979.

- [53] K. J. Busam, H. Kutzner, L. Cerroni e T. Wiesner, «Clinical and pathologic findings of Spitz nevi and atypical Spitz tumors with ALK fusions,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 38, n. 7, pp. 925–933, 2014.
- [54] D. E. Elder e G. F. Murphy, *Melanocytic tumors of the skin*. Armed Forces Institute of Pathology, 1991.
- [55] J. C. Maize e A. B. Ackerman, «Pigmented lesions of the skin: clinicopathologic correlations,» (*No Title*), 1987.
- [56] N. Walsh, K. Crotty, A. Palmer e S. McCarthy, «Spitz nevus versus spitzoid malignant melanoma: an evaluation of the current distinguishing histopathologic criteria,» *Human pathology*, vol. 29, n. 10, pp. 1105–1112, 1998.
- [57] D. Massi, C. Tomasini, R. Senetta et al., «Atypical Spitz tumors in patients younger than 18 years,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 72, n. 1, pp. 37–46, 2015.
- [58] C. Carrera, A. Scope, S. W. Dusza et al., «Clinical and dermoscopic characterization of pediatric and adolescent melanomas: Multicenter study of 52 cases,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 78, n. 2, pp. 278–288, 2018.
- [59] M. Peters e J. Goellner, «Spitz naevi and malignant melanomas of childhood and adolescence,» *Histopathology*, vol. 10, n. 12, pp. 1289–1302, 1986.
- [60] S. Luo, A. Sepehr e H. Tsao, «Spitz nevi and other Spitzoid lesions: Part I. Background and Diagnoses,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 65, n. 6, pp. 1073–1084, 2011.
- [61] C. R. Shea e J. A. Reed, «Pathology of Challenging Melanocytic Neoplasms,» 2015.
- [62] J. Bhawan, «Non-melanocytic mimics of melanocytic neoplasms,» *Histopathology*, vol. 60, n. 5, pp. 715–730, 2012.
- [63] R. Reed, H. Ichinose e C. WH JR, «Common and uncommon melanocytic nevi and borderline melanomas,» 1975.
- [64] P. Sau, J. H. Graham e E. B. Helwig, «Pigmented spindle cell nevus: a clinicopathologic analysis of ninety-five cases,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 28, n. 4, pp. 565–571, 1993.
- [65] N. Smith, «The pigmented spindle cell tumor of Reed: an underdiagnosed lesion.,» in *Seminars in Diagnostic Pathology*, vol. 4, 1987, pp. 75–87.



- [66] C. Papageorgiou, Z. Apalla, M. Bobos et al., «Dermoscopy of Spitz/Reed naevi and management.,» *Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia: Organo Ufficiale, Societa Italiana di Dermatologia e Sifilografia*, vol. 154, n. 4, pp. 457–465, 2019.
- [67] G. Ferrara, G. Argenziano, H. P. Soyer et al., «The spectrum of Spitz nevi: a clinicopathologic study of 83 cases,» *Archives of dermatology*, vol. 141, n. 11, pp. 1381–1387, 2005.
- [68] A. Díaz, A. Valera, C. Carrera et al., «Pigmented spindle cell nevus: clues for differentiating it from spindle cell malignant melanoma. A comprehensive survey including clinicopathologic, immunohistochemical, and FISH studies,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 35, n. 11, pp. 1733–1742, 2011.
- [69] R. L. Barnhill, M. A. Barnhill, M. Berwick e M. C. Mihm Jr, «The histologic spectrum of pigmented spindle cell nevus: a review of 120 cases with emphasis on atypical variants,» *Human pathology*, vol. 22, n. 1, pp. 52–58, 1991.
- [70] G. Fabrizi e G. Massi, «Polypoid Spitz naevus: the benign counterpart of polypoid malignant melanoma,» *British Journal of Dermatology*, vol. 142, n. 1, pp. 128–132, 2000.
- [71] J. A. Plaza, D. De Stefano, S. Suster et al., «Intradermal spitz nevi: a rare subtype of spitz nevi analyzed in a clinicopathologic study of 74 cases,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 36, n. 4, pp. 283–297, 2014.
- [72] M. Donati, L. Kastnerova, N. Ptakova, M. Michal e D. V. Kazakov, «Polypoid atypical Spitz tumor with a fibrosclerotic stroma, CLIP2-BRAF fusion, and homozygous loss of 9p21,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 42, n. 3, pp. 204–207, 2020.
- [73] H. Hamm, R. Happle e E.-B. BRÖCKER, «Multiple agminate Spitz naevi: review of the literature and report of a case with distinctive immunohistological features,» *British Journal of Dermatology*, vol. 117, n. 4, pp. 511–522, 1987.
- [74] M. Zeng, Q. Kong, H. Sang, D. Deng e Q. Xie, «Agminated spitz nevi: case report and review of the literature,» *Pediatric Dermatology*, vol. 30, n. 5, e104–e105, 2013.

- [75] N. S. Prose, E. Heilman, Y. M. Felman, F. Tanzer e J. Silber, «Multiple benign juvenile melanoma,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 9, n. 2, pp. 236–242, 1983.
- [76] K. J. Busam e R. L. Barnhill, «Pagetoid Spitz nevus: intraepidermal Spitz tumor with prominent pagetoid spread,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 19, n. 9, pp. 1061–1067, 1995.
- [77] A. P. Fernandez, S. D. Billings, W. F. Bergfeld, J. S. Ko e M. P. Piliang, «Pagetoid Spitz nevi: clinicopathologic characterization of a series of 12 cases,» *Journal of Cutaneous Pathology*, vol. 43, n. 11, pp. 932–939, 2016.
- [78] P. Gerami, R. L. Barnhill, B. A. Beilfuss, P. LeBoit, P. Schneider e J. Guitart, «Superficial melanocytic neoplasms with pagetoid melanocytosis: a study of interobserver concordance and correlation with FISH,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 34, n. 6, pp. 816–821, 2010.
- [79] C. J. Ko, J. M. McNiff e E. J. Glusac, «Melanocytic nevi with features of Spitz nevi and Clark's/dysplastic nevi ("Spark's" nevi),» *Journal of cutaneous pathology*, vol. 36, n. 10, pp. 1063–1068, 2009.
- [80] S. Toussaint e H. Kamino, «Dysplastic changes in different types of melanocytic nevi. A unifying concept,» *Journal of cutaneous pathology*, vol. 26, n. 2, pp. 84–90, 1999.
- [81] A. M. Sherrill, G. Crespo, A. V. Prakash e J. L. Messina, «Desmoplastic nevus: an entity distinct from Spitz nevus and blue nevus,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 33, n. 1, pp. 35–39, 2011.
- [82] R. Mackie e V. Doherty, «The desmoplastic melanocytic naevus: a distinct histological entity,» *Histopathology*, vol. 20, n. 3, pp. 207–211, 1992.
- [83] R. J. Barr, R. V. Morales e J. H. Graham, «Desmoplastic nevus. A distinct histologic variant of mixed spindle cell and epithelioid cell nevus,» *Cancer*, vol. 46, n. 3, pp. 557–564, 1980.
- [84] S. Suster, «Hyalinizing spindle and epithelioid cell nevus: a study of five cases of a distinctive histologic variant of Spitz's nevus,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 16, n. 6, pp. 593–598, 1994.
- [85] J. Liu, P. R. Cohen e A. Farhood, «Hyalinizing Spitz nevus: spindle and epithelioid cell nevus with paucicellular collagenous stroma,» *Southern medical journal*, vol. 97, n. 1, pp. 102–107, 2004.

- [86] C. Diaz-Cascajo, S. Borghi e W. Weyers, «Angiomatoid Spitz nevus: a distinct variant of desmoplastic Spitz nevus with prominent vasculature.» *The American journal of dermatopathology*, vol. 22, n. 2, pp. 135–139, 2000.
- [87] O. E. Kwon, B.-S. Ku, Y.-K. Lee, Y.-H. Kim e K.-H. Kim, «Angiomatoid Spitz Nevus,» *Annals of Dermatology*, vol. 20, n. 1, p. 14, 2008.
- [88] G. S. Rogers, H. Advani e B. A. Ackerman, «A combined variant of Spitz's nevi How to differentiate them from malignant melanomas,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 7, pp. 61–78, 1985.
- [89] J. L. Baran e L. M. Duncan, «Combined melanocytic nevi: histologic variants and melanoma mimics,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 35, n. 10, pp. 1540–1548, 2011.
- [90] S. Cramer, «Prominent mast cells in myxoid Spitz nevus,» *Archives of pathology & laboratory medicine*, vol. 114, n. 12, pp. 1191–1192, 1990.
- [91] A. Fernandez-Flores, E. Riveiro-Falkenbach e D. S. Cassarino, «Myxoid spitz nevi: report of 6 cases,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 40, n. 1, pp. 30–35, 2018.
- [92] J. D. Harvell, S. A. Meehan e P. E. LeBoit, «Spitz's nevi with halo reaction: a histopathologic study of 17 cases,» *Journal of cutaneous pathology*, vol. 24, n. 10, pp. 611–619, 1997.
- [93] N. Yasaka, M. Fume e K. Tamaki, «Histopathological evaluation of halo phenomenon in Spitz nevus,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 17, n. 5, pp. 484–486, 1995.
- [94] M Akiyama, N Inamoto, S Kuramochi e K Nakamura, «Spitz naevus with a predominant epithelioid cell component and halo reaction.,» *Histopathology*, vol. 31, n. 3, pp. 292–293, 1997.
- [95] J. H. Choi, K. J. Sung e J. K. Koh, «Pigmented epithelioid cell nevus: a variant of Spitz nevus?» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 28, n. 3, pp. 497–498, 1993.
- [96] C Requena, L Requena, E Sánchez-Yus et al., «Pigmented epithelioid Spitz naevus: report of two cases,» *Histopathology*, vol. 49, n. 5, pp. 549–551, 2006.
- [97] E. C. Bayraktar e G. Jour, «Pigmented epithelioid melanocytomas and their mimics; Focus on their novel molecular findings,» *Biology*, vol. 10, n. 12, p. 1290, 2021.

- [98] A. de La Fouchardiere, F. Tirode, C. Castillo et al., «Attempting to solve the pigmented epithelioid melanocytoma (PEM) conundrum: PRKAR1A inactivation can occur in different genetic backgrounds (common, blue, and spitz subgroups) with variation in their clinicopathologic characteristics,» *The American Journal of Surgical Pathology*, vol. 46, n. 8, pp. 1106–1115, 2022.
- [99] G. Burg, W. Kempf, M. Höchli, T. Huwyler e R. G. Panizzon, «‘Tubular’ epithelioid cell nevus: a new variant of Spitz’s nevus,» *Journal of cutaneous pathology*, vol. 25, n. 9, pp. 475–478, 1998.
- [100] V. Sabater Marco, B. Escutia Muñoz, A. Morera Faet, M. M. Roig e R. Botella Estrada, «Pseudogranulomatous Spitz nevus: a variant of Spitz nevus with heavy inflammatory infiltrate mimicking a granulomatous dermatitis,» *Journal of Cutaneous Pathology*, vol. 40, n. 3, pp. 330–335, 2013.
- [101] J. D. Harvell, B. C. Bastian e P. E. LeBoit, «Persistent (recurrent) Spitz nevi: a histopathologic, immunohistochemical, and molecular pathologic study of 22 cases,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 26, n. 5, pp. 654–661, 2002.
- [102] J. Stern, «Recurrent Spitz’s nevi. A clinicopathologic investigation.,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 7, pp. 49–50, 1985.
- [103] C. Ruijter, W Ouwerkerk, E. Jaspars et al., «Incidence and outcome of Spitzoid tumour of unknown malignant potential (STUMP): an analysis of cases in the Netherlands from 1999 to 2014,» *British Journal of Dermatology*, vol. 183, n. 6, pp. 1121–1123, 2020.
- [104] A. Houlier, D. Pissaloux, I. Masse et al., «Melanocytic tumors with MAP3K8 fusions: report of 33 cases with morphological-genetic correlations,» *Modern Pathology*, vol. 33, n. 5, pp. 846–857, 2020.
- [105] C. Requena, R. Botella, E. Nagore et al., «Characteristics of spitzoid melanoma and clues for differential diagnosis with spitz nevus,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 34, n. 5, pp. 478–486, 2012.
- [106] K. A. Crotty, R. A. Scolyer, L. X. L. Li, A. A. Palmer, L. Wang e S. W. McCarthy, «Spitz naevus versus Spitzoid melanoma: when and how can they be distinguished?» *Pathology*, vol. 34, n. 1, pp. 6–12, 2002.
- [107] S. S. Raghavan, S. Petermel, T. W. Mully et al., «Spitz melanoma is a distinct subset of spitzoid melanoma,» *Modern pathology*, vol. 33, n. 6, pp. 1122–1134, 2020.

- [108] J. Duraiyan, R. Govindarajan, K. Kaliyappan e M. Palanisamy, «Applications of immunohistochemistry,» *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, vol. 4, n. Suppl 2, S307–S309, 2012.
- [109] L. M. Hillen, J. Van den Oord, M. S. Geybels, J. C. Becker, A. Zur Hausen e V. Winnepenninckx, «Genomic landscape of spitzoid neoplasms impacting patient management,» *Frontiers in medicine*, vol. 5, p. 344, 2018.
- [110] A. Ribé e N. S. McNutt, «S100A6 protein expression is different in Spitz nevi and melanomas,» *Modern pathology*, vol. 16, n. 5, pp. 505–511, 2003.
- [111] P. Kapur, M. A. Selim, L. C. Roy, M. Yegappan, A. G. Weinberg e M. P. Hoang, «Spitz nevi and atypical Spitz nevi/tumors: a histologic and immunohistochemical analysis,» *Modern pathology*, vol. 18, n. 2, pp. 197–204, 2005.
- [112] R. T. Vollmer, «Use of Bayes rule and MIB-1 proliferation index to discriminate Spitz nevus from malignant melanoma,» *American journal of clinical pathology*, vol. 122, n. 4, pp. 499–505, 2004.
- [113] R. Bergman, L. Malkin, E. Sabo e H. Kerner, «MIB-1 monoclonal antibody to determine proliferative activity of Ki-67 antigen as an adjunct to the histopathologic differential diagnosis of Spitz nevi,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 44, n. 3, pp. 500–504, 2001.
- [114] R. G. Ladstein, I. M. Bachmann, O. Straume e L. A. Akslen, «Ki-67 expression is superior to mitotic count and novel proliferation markers PHH3, MCM4 and mitosin as a prognostic factor in thick cutaneous melanoma,» *BMC cancer*, vol. 10, pp. 1–15, 2010.
- [115] M. R. Nasr e O. El-Zammar, «Comparison of pHH3, Ki-67, and survivin immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 30, n. 2, pp. 117–122, 2008.
- [116] T. Nagasaka, R. Lai, L. J. Medeiros et al., «Cyclin D1 overexpression in Spitz nevi: an immunohistochemical study,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 21, n. 2, pp. 115–120, 1999.
- [117] J. A. Curtin, J. Fridlyand, T. Kageshita et al., «Distinct sets of genetic alterations in melanoma,» *New England Journal of Medicine*, vol. 353, n. 20, pp. 2135–2147, 2005.

- [118] J. H. Cho-Vega, «A diagnostic algorithm for atypical spitzoid tumors: guidelines for immunohistochemical and molecular assessment,» *Modern Pathology*, vol. 29, n. 7, pp. 656–670, 2016.
- [119] R. Al Dhaybi, M. Agoumi, I. Gagné, C. McCuaig, J. Powell e V. Kokta, «p16 expression: a marker of differentiation between childhood malignant melanomas and Spitz nevi,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 65, n. 2, pp. 357–363, 2011.
- [120] N. J. Hilliard, D. Krahl e K. Sellheyer, «p16 expression differentiates between desmoplastic Spitz nevus and desmoplastic melanoma,» *Journal of cutaneous pathology*, vol. 36, n. 7, pp. 753–759, 2009.
- [121] P. Yazdan, C. Cooper, L. M. Sholl et al., «Comparative analysis of atypical spitz tumors with heterozygous versus homozygous 9p21 deletions for clinical outcomes, histomorphology, BRAF mutation, and p16 expression,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 38, n. 5, pp. 638–645, 2014.
- [122] D. Weinstein, J. Leininger, C. Hamby e B. Safai, «Diagnostic and prognostic biomarkers in melanoma,» *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, vol. 7, n. 6, p. 13, 2014.
- [123] B. C. Willis, G. Johnson, J. Wang e C. Cohen, «SOX10: a useful marker for identifying metastatic melanoma in sentinel lymph nodes,» *Applied immunohistochemistry & molecular morphology*, vol. 23, n. 2, pp. 109–112, 2015.
- [124] M. J. Evans, D. S. A. Sanders, J. H. Grant e K. Blessing, «Expression of Melan-A in Spitz, pigmented spindle cell nevi, and congenital nevi: comparative immunohistochemical study,» *Pediatric and Developmental Pathology*, vol. 3, pp. 36–39, 2000.
- [125] C. S. Carter e R. M. Patel, «Cutaneous soft tissue tumors: diagnostically disorienting epithelioid tumors that are not epithelial, and other perplexing mesenchymal lesions,» *Modern Pathology*, vol. 33, pp. 66–82, 2020.
- [126] R. King, P. B. Googe, K. N. Weilbaecher, M. C. Mihm Jr e D. E. Fisher, «Microphthalmia transcription factor expression in cutaneous benign, malignant melanocytic, and nonmelanocytic tumors,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 25, n. 1, pp. 51–57, 2001.

- [127] R. Garola e V. Singh, «Utility of p16-Ki-67-HMB45 score in sorting benign from malignant Spitz tumors,» *Pathology-Research and Practice*, vol. 215, n. 10, p. 152-155, 2019.
- [128] L. Ali, T. Helm, R. Cheney et al., «Correlating array comparative genomic hybridization findings with histology and outcome in spitzoid melanocytic neoplasms,» *International journal of clinical and experimental pathology*, vol. 3, n. 6, p. 593, 2010.
- [129] G. Ferrara e A. C. De Vanna, «Fluorescence in situ hybridization for melanoma diagnosis: a review and a reappraisal,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 38, n. 4, pp. 253–269, 2016.
- [130] P. Gerami, R. A. Scolyer, X. Xu et al., «Risk assessment for atypical spitzoid melanocytic neoplasms using FISH to identify chromosomal copy number aberrations,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 37, n. 5, pp. 676–684, 2013.
- [131] J. P. North, M. C. Garrido, N. A. Kolaitis, P. E. LeBoit, T. H. McCalmont e B. C. Bastian, «Fluorescence in situ hybridization as an ancillary tool in the diagnosis of ambiguous melanocytic neoplasms: a review of 804 cases,» *The American Journal of Surgical Pathology*, vol. 38, n. 6, pp. 824–831, 2014.
- [132] A. K. Isaac, T. Lertsburapa, J. P. Mundi, M. Martini, J. Guitart e P. Gerami, «Polyploidy in spitz nevi: a not uncommon karyotypic abnormality identifiable by fluorescence in situ hybridization,» *The American journal of dermatopathology*, vol. 32, n. 2, pp. 144–148, 2010.
- [133] S. Behjati e P. S. Tarpey, «What is next generation sequencing?» *Archives of Disease in Childhood-Education and Practice*, vol. 98, n. 6, pp. 236–238, 2013.
- [134] S. K. Zarabi, E. M. Azzato, Z. J. Tu et al., «Targeted next generation sequencing (NGS) to classify melanocytic neoplasms,» *Journal of Cutaneous Pathology*, vol. 47, n. 8, pp. 691–704, 2020.
- [135] V. L. Quan, B. Zhang, Y. Zhang et al., «Integrating next-generation sequencing with morphology improves prognostic and biologic classification of Spitz neoplasms,» *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 140, n. 8, pp. 1599–1608, 2020.

- [136] S. M. Amin, A. M. Haugh, C. Y. Lee et al., «A comparison of morphologic and molecular features of BRAF, ALK, and NTRK1 fusion spitzoid neoplasms,» *The American Journal of Surgical Pathology*, vol. 41, n. 4, pp. 491–498, 2017.
- [137] B. C. Bastian, P. E. LeBoit e D. Pinkel, «Mutations and copy number increase of HRAS in Spitz nevi with distinctive histopathological features,» *The American journal of pathology*, vol. 157, n. 3, pp. 967–972, 2000.
- [138] C. Urso, «Melanocytic skin neoplasms: what lesson from genomic aberrations?» *The American Journal of dermatopathology*, vol. 41, n. 9, pp. 623–629, 2019.
- [139] A. H. Shain, I. Yeh, I. Kovalyshyn et al., «The genetic evolution of melanoma from precursor lesions,» *New England Journal of Medicine*, vol. 373, n. 20, pp. 1926–1936, 2015.
- [140] R. Akbani, K. C. Akdemir, B. A. Aksoy et al., «Genomic classification of cutaneous melanoma,» *Cell*, vol. 161, n. 7, pp. 1681–1696, 2015.
- [141] F. W. Huang, E. Hodis, M. J. Xu, G. V. Kryukov, L. Chin e L. A. Garraway, «Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma,» *Science*, vol. 339, n. 6122, pp. 957–959, 2013.
- [142] T. Botton, I. Yeh, T. Nelson et al., «Recurrent BRAF kinase fusions in melanocytic tumors offer an opportunity for targeted therapy,» *Pigment cell & melanoma research*, vol. 26, n. 6, pp. 845–851, 2013.
- [143] I. Yeh, T. Botton, E. Talevich et al., «Activating MET kinase rearrangements in melanoma and Spitz tumours,» *Nature communications*, vol. 6, n. 1, p. 7174, 2015.
- [144] I. Yeh, K. J. Busam, T. H. McCalmont et al., «Filigree-like rete ridges, lobulated nests, rosette-like structures, and exaggerated maturation characterize Spitz tumors with NTRK1 fusion,» *The American Journal of Surgical Pathology*, vol. 43, n. 6, pp. 737–746, 2019.
- [145] A. de la Fouchardière, M. K. Tee, S. Peternel et al., «Fusion partners of NTRK3 affect subcellular localization of the fusion kinase and cytomorphology of melanocytes,» *Modern pathology*, vol. 34, n. 4, pp. 735–747, 2021.



- [146] K. Goto, D. Pissaloux, F. Tirode e A. de la Fouchardière, «Spitz nevus with a novel TFG-NTRK2 fusion: The first case report of NTRK2-rearranged Spitz/Reed nevus,» *Journal of Cutaneous Pathology*, vol. 48, n. 9, pp. 1193–1196, 2021.
- [147] V. L. Quan, B. Zhang, L. S. Mohan et al., «Activating structural alterations in MAPK genes are distinct genetic drivers in a unique subgroup of spitzoid neoplasms,» *The American Journal of Surgical Pathology*, vol. 43, n. 4, pp. 538–548, 2019.
- [148] K. Kerckhoffs, T Aallali, C. Ambarus, V Sigurdsson, A. Jansen e W. Blokx, «Expanding spectrum of “spitzoid” lesions: a small series of 4 cases with MAP2K1 mutations,» *Virchows Archiv*, vol. 479, pp. 195–202, 2021.
- [149] J. C. Sunshine, D. Kim, B. Zhang et al., «Melanocytic neoplasms with MAP2K1 in frame deletions and Spitz morphology,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 42, n. 12, pp. 923–931, 2020.
- [150] M. Donati, D. Nosek, P. Waldenbäck et al., «MAP2K1-mutated melanocytic neoplasms with a SPARK-like morphology,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 43, n. 6, pp. 412–417, 2021.
- [151] C. M. Lezcano, I. Yeh, N. Eslamdoost et al., «Expanding the spectrum of microscopic and cytogenetic findings associated with Spitz tumors with 11p gains,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 45, n. 2, pp. 277–285, 2021.
- [152] I. A. Prior, P. D. Lewis e C. Mattos, «A comprehensive survey of Ras mutations in cancer,» *Cancer research*, vol. 72, n. 10, pp. 2457–2467, 2012.
- [153] E. Makrodouli, E. Oikonomou, M. Koc et al., «BRAF and RAS oncogenes regulate Rho GTPase pathways to mediate migration and invasion properties in human colon cancer cells: a comparative study,» *Molecular cancer*, vol. 10, pp. 1–21, 2011.
- [154] A. L. Ross, M. I. Sanchez, J. M. Grichnik et al., «Molecular nevogenesis,» *Dermatology research and practice*, vol. 2011, 2011.
- [155] B. C. Bastian, U. Wesselmann, D. Pinkel e P. E. LeBoit, «Molecular cytogenetic analysis of Spitz nevi shows clear differences to melanoma,» *Journal of investigative dermatology*, vol. 113, n. 6, pp. 1065–1069, 1999.

- [156] A. van Grunsven, M. van Dijk, D. Ruiter, A. Klaasen, W. Mooi e W. Blokk, «HRAS-mutated Spitz tumors: A subtype of Spitz tumors with distinct features.,» 2010.
- [157] R. Lazova, N. Pornputtpong, R. Halaban et al., «Spitz nevi and Spitzoid melanomas: exome sequencing and comparison with conventional melanocytic nevi and melanomas,» *Modern Pathology*, vol. 30, n. 5, pp. 640–649, 2017.
- [158] J. Y. Li, M. F. Berger, A. Marghoob, U. K. Bhanot, J. P. Toyohara e M. P. Pulitzer, «Combined melanocytic and sweat gland neoplasm: cell subsets harbor an identical HRAS mutation in phacomatosis pigmentokeratocica,» *Journal of cutaneous pathology*, vol. 41, n. 8, pp. 663–671, 2014.
- [159] K Nemeth, S Szabo, C. Cottrell et al., «Mosaic pathogenic HRAS variant in a patient with nevus spilus with agminated Spitz nevi and parametrial–uterine rhabdomyosarcoma,» *British Journal of Dermatology*, vol. 178, n. 3, pp. 804–806, 2018.
- [160] S Gantner, T Wiesner, L Cerroni et al., «Absence of BRAF and HRAS mutations in eruptive Spitz naevi,» *British Journal of Dermatology*, vol. 164, n. 4, pp. 873–877, 2011.
- [161] D. Massi, L. Simi, E. Sensi et al., «Immunohistochemistry is highly sensitive and specific for the detection of NRASQ61R mutation in melanoma,» *Modern Pathology*, vol. 28, n. 4, pp. 487–497, 2015.
- [162] A. Felisiak-Goląbek, S. Inaguma, A. Kowalik et al., «SP174 antibody lacks specificity for NRAS Q61R and cross-reacts with HRAS and KRAS Q61R mutant proteins in malignant melanoma,» *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, vol. 26, n. 1, pp. 40–45, 2018.
- [163] C. A. Dal Pozzo e R. Cappellesso, «The morpho-molecular landscape of spitz neoplasms,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, n. 8, p. 4211, 2022.
- [164] P. Gerami, D. Kim, E. V. Compres et al., «Clinical, morphologic, and genomic findings in ROS1 fusion Spitz neoplasms,» *Modern Pathology*, vol. 34, n. 2, pp. 348–357, 2021.
- [165] K. Y. Sarin, B. K. Sun, C. D. Bangs et al., «Activating HRAS mutation in agminated Spitz nevi arising in a nevus spilus,» *JAMA dermatology*, vol. 149, n. 9, pp. 1077–1081, 2013.

- [166] P. Da Forno, J. Pringle, A Fletcher et al., «BRAF, NRAS and HRAS mutations in spitzoid tumours and their possible pathogenetic significance,» *British Journal of Dermatology*, vol. 161, n. 2, pp. 364–372, 2009.
- [167] B. C. Bastian, «Understanding the progression of melanocytic neoplasia using genomic analysis: from fields to cancer,» *Oncogene*, vol. 22, n. 20, pp. 3081–3086, 2003.
- [168] T. Iwahara, J. Fujimoto, D. Wen et al., «Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system,» *Oncogene*, vol. 14, n. 4, pp. 439–449, 1997.
- [169] K Pulford, S. Morris e F Turturro, «Anaplastic lymphoma kinase proteins in growth control and cancer,» *Journal of cellular physiology*, vol. 199, n. 3, pp. 330–358, 2004.
- [170] A. Slupianek, M. Nieborowska-Skorska, G. Hoser et al., «Role of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway in nucleophosmin/anaplastic lymphoma kinase-mediated lymphomagenesis,» *Cancer research*, vol. 61, n. 5, pp. 2194–2199, 2001.
- [171] A. Zamo, R. Chiarle, R. Piva et al., «Anaplastic lymphoma kinase (ALK) activates Stat3 and protects hematopoietic cells from cell death,» *Oncogene*, vol. 21, n. 7, pp. 1038–1047, 2002.
- [172] S. Lee, R. L. Barnhill, R. Dummer et al., «TERT promoter mutations are predictive of aggressive clinical behavior in patients with spitzoid melanocytic neoplasms,» *Scientific reports*, vol. 5, n. 1, p. 11 200, 2015.
- [173] L. Kastnerova, P. Martinek, P. Grossmann et al., «A clinicopathological study of 29 spitzoid melanocytic lesions with ALK fusions, including novel fusion variants, accompanied by fluorescence in situ hybridization analysis for chromosomal copy number changes, and both TERT promoter and next-generation sequencing mutation analysis,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 42, n. 8, pp. 578–592, 2020.
- [174] M. Fujimoto, Y. Togashi, I. Matsuzaki et al., «A case report of atypical Spitz tumor harboring a novel MLPH-ALK gene fusion with discordant ALK immunohistochemistry results,» *Human Pathology*, vol. 80, pp. 99–103, 2018.

- [175] C. T. Chung, P. Marrano, D. Swanson, B. C. Dickson e P. S. Thorner, «Fusion of ALK to the melanophilin gene MLPH in pediatric Spitz nevi,» *Human Pathology*, vol. 87, pp. 57–64, 2019.
- [176] M. Kiuru, A. Jungbluth, H. Kutzner, T. Wiesner e K. J. Busam, «Spitz tumors: comparison of histological features in relationship to immunohistochemical staining for ALK and NTRK1,» *International Journal of Surgical Pathology*, vol. 24, n. 3, pp. 200–206, 2016.
- [177] R. A. Brown, J. Y. Wang, S. S. Raghavan et al., «ALK-positive compound Spitz nevus with extensive perineural and intraneural neurotropism,» *Journal of Cutaneous Pathology*, vol. 48, n. 1, pp. 154–159, 2021.
- [178] A. Drilon, C. Jenkins, S. Iyer, A. Schoenfeld, C. Keddy e M. A. Davare, «ROS1-dependent cancers—biology, diagnostics and therapeutics,» *Nature reviews Clinical oncology*, vol. 18, n. 1, pp. 35–55, 2021.
- [179] A. M. Cesinaro, G. Gallo, S. Manfredini, A. Maiorana e S. R. Bettelli, «ROS1 pattern of immunostaining in 11 cases of spitzoid tumour: comparison with histopathological, fluorescence in-situ hybridisation and next-generation sequencing analysis,» *Histopathology*, vol. 79, n. 6, pp. 966–974, 2021.
- [180] S. J. Robertson, L. Orme, R. Teixeira et al., «Evaluation of crizotinib treatment in a patient with unresectable GOPC-ROS1 fusion agminated Spitz nevi,» *JAMA dermatology*, vol. 157, n. 7, pp. 836–841, 2021.
- [181] K. Goto, D. Pissaloux, F. Kauer, V. Huriot, F. Tirode e A. de la Fouchardière, «GOPC-ROS1 mosaicism in agminated Spitz naevi: Report of two cases,» *Virchows Archiv*, vol. 479, n. 3, pp. 559–564, 2021.
- [182] E. Cocco, M. Scaltriti e A. Drilon, «NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy,» *Nature reviews Clinical oncology*, vol. 15, n. 12, pp. 731–747, 2018.
- [183] L. Wang, K. J. Busam, R. Benayed et al., «Identification of NTRK3 fusions in childhood melanocytic neoplasms,» *The Journal of Molecular Diagnostics*, vol. 19, n. 3, pp. 387–396, 2017.
- [184] R. Cappellesso, F. Nozzoli, F. Zito Marino et al., «NTRK gene fusion detection in atypical Spitz tumors,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, n. 22, p. 12 332, 2021.

- [185] T. VandenBoom, V. L. Quan, B. Zhang et al., «Genomic fusions in pigmented spindle cell nevus of reed,» *The American journal of surgical pathology*, vol. 42, n. 8, pp. 1042–1051, 2018.
- [186] D. Šekoranja, J. Pižem e B. Luzar, «An Update on Molecular Genetic Aberrations in Spitz Melanocytic Proliferations: Correlation with Morphological Features and Biological Behavior.,» *Acta Medica Academica*, vol. 50, n. 1, 2021.
- [187] D. Kim, E. V. Compres, B. Zhang et al., «A series of RET fusion Spitz neoplasms with plaque-like silhouette and dyscohesive nesting of epithelioid melanocytes,» *The American Journal of Dermatopathology*, vol. 43, n. 4, pp. 243–251, 2021.
- [188] B. D. Lehmann, T. M. Shaver, D. B. Johnson et al., «Identification of targetable recurrent MAP3K8 rearrangements in melanomas lacking known driver mutations,» *Molecular Cancer Research*, vol. 17, n. 9, pp. 1842–1853, 2019.
- [189] Y. Gao, M. T. Chang, D. McKay et al., «Allele-specific mechanisms of activation of MEK1 mutants determine their properties,» *Cancer discovery*, vol. 8, n. 5, pp. 648–661, 2018.
- [190] J. M. Aramini, S. M. Vorobiev, L. M. Tuberty et al., «The RAS-binding domain of human BRAF protein serine/threonine kinase exhibits allosteric conformational changes upon binding HRAS,» *Structure*, vol. 23, n. 8, pp. 1382–1393, 2015.
- [191] G Richtig, C Hoeller, K Kashofer et al., «Beyond the BRAF V 600E hotspot: Biology and clinical implications of rare BRAF gene mutations in melanoma patients,» *British Journal of Dermatology*, vol. 177, n. 4, pp. 936–944, 2017.
- [192] K. E. Hutchinson, D. Lipson, P. J. Stephens et al., «BRAF fusions define a distinct molecular subset of melanomas with potential sensitivity to MEK inhibition,» *Clinical Cancer Research*, vol. 19, n. 24, pp. 6696–6702, 2013.
- [193] D. Kim, A. U. Khan, E. V. Compres et al., «BRAF fusion Spitz neoplasms; clinical morphological, and genomic findings in six cases,» *Journal of cutaneous pathology*, vol. 47, n. 12, pp. 1132–1142, 2020.

- [194] E. Perron, D. Pissaloux, A. Neub et al., «Unclassified sclerosing malignant melanomas with AKAP9-BRAF gene fusion: a report of two cases and review of BRAF fusions in melanocytic tumors,» *Virchows Archiv*, vol. 472, pp. 469–476, 2018.
- [195] V. De Giorgi, F. Venturi, F. Silvestri et al., «Atypical Spitz tumours: an epidemiological, clinical and dermoscopic multicentre study with 16 years of follow-up,» *Clinical and Experimental Dermatology*, vol. 47, n. 8, pp. 1464–1471, 2022.
- [196] S. N. Gelbard, J. M. Tripp, A. A. Marghoob et al., «Management of Spitz nevi: a survey of dermatologists in the United States,» *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 47, n. 2, pp. 224–230, 2002.
- [197] A. T. Metzger, A. A. Kane e S. J. Bayliss, «Differences in treatment of Spitz nevi and atypical Spitz tumors in pediatric patients among dermatologists and plastic surgeons,» *JAMA dermatology*, vol. 149, n. 11, pp. 1348–1350, 2013.
- [198] S. Nawrocki, N. Mikhail, S. Ghotb e A. Maghari, «Assessment of Shave Removal Without Further Excision in the Treatment of Spitz Nevi: A Retrospective Study of 58 Cases,» *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, vol. 24, n. 2, pp. 144–148, 2020.
- [199] S. Batra, «Spitzoid melanoma of childhood: a case series and review,» *Melanoma Management*, vol. 2, n. 2, pp. 121–125, 2015.
- [200] A. Lallas, A. Kyrgidis, G. Ferrara et al., «Atypical Spitz tumours and sentinel lymph node biopsy: a systematic review,» *The lancet oncology*, vol. 15, n. 4, e178–e183, 2014.
- [201] V. PANASITI, M. BARONE, R. COPPOLA et al., «Italian Journal of Dermatology and Venereology 2021 June; 156 (3): 378-83,» *Italian Journal*, vol. 156, 2021.
- [202] L. Tognetti, E. Cinotti, E. Moscarella et al., «Impact of clinical and personal data in the dermoscopic differentiation between early melanoma and atypical nevi,» *Dermatology Practical & Conceptual*, vol. 8, n. 4, p. 324, 2018.