

Matricola: 0000661123

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

***Deep Learning applicato all'identificazione di cellule
melanocitarie su preparati istologici***

Tesi di Laurea in
Dermatologia e Malattie Veneree

Presentata da:
Giancarlo De Luna

Relatore:
Prof.ssa **Emi Dika**

Correlatore:
Dott. **Enrico Giampieri**

Anno Accademico 2018/2019

Sessione I

INDICE

ABSTRACT.....	4
PARTE GENERALE.....	5
CAPITOLO 1: Il melanoma.....	5
1.1 Epidemiologia.....	5
1.2 Eziologia.....	5
1.3 Genetica.....	6
1.4 Istologia.....	7
1.5 Melanoma su nevo.....	7
1.6 Stadiazione.....	9
1.7 Prognosi.....	10
1.8 Cenni di terapia.....	10
CAPITOLO 2: Imaging digitale.....	12
2.1 Whole Slide Imaging.....	12
2.2 Dermatoscopia.....	14
CAPITOLO 3: Machine Learning e Deep Learning.....	15
3.1 Reti neurali.....	15
3.2 Apprendimento.....	16
3.3 Processing delle immagini.....	17
3.4 Segmentazione con una rete neurale	18
3.5 Metodi di valutazione	19
PARTE SPERIMENTALE.....	20
Introduzione ed obiettivi.....	20
Metodi.....	20
Popolazione dello studio.....	20
Raccolta dei dati.....	21
Training della rete neurale.....	22
Risultati.....	26
Discussione.....	29
Limiti dello studio.....	31
Conclusioni.....	32
Bibliografia.....	33

ABSTRACT

Obiettivo

Questo studio si propone di individuare un metodo aggiuntivo all'istopatologia che permetta di ottenere una diagnosi "computer-aided", andando a rafforzare le conoscenze attuali con l'aiuto della tecnologia per migliorare e velocizzare il lavoro del patologo, fornendo uno strumento che possa aiutare a indicare aree precise del preparato dove si ha la più alta concentrazione di raggruppamenti di cellule con atipie e in futuro fornire una selezione di codici di priorità, codificando preparati a rischio basso, intermedio ed alto.

Metodi

Abbiamo raccolto le immagini istopatologiche e dermatoscopiche di 33 casi di melanoma su nevo. Abbiamo addestrato una rete neurale a riconoscere le aree di atipia sui preparati istologici, tramite costruzione di una heatmap che segnala aree critiche. Per farlo ci siamo basati sulle informazioni provenienti dalla dermatoscopia,

Risultati

Dai nostri risultati emerge una corrispondenza sulla morfologia e la distribuzione delle cellule neoplastiche, osservate tramite la costruzione della heatmap con la tecnica di intelligenza artificiale e le stesse caratteristiche osservate alla dermatoscopia.

Conclusioni

Questo tool potrebbe implementare la diagnostica di neoplasie cutanee, associato alle tecniche tradizionali, ovvero dermatoscopia e diagnosi istopatologica.

PARTE GENERALE

CAPITOLO 1: Melanoma

1.1 Epidemiologia

Il melanoma è il tumore più aggressivo della cute. È il secondo tumore più frequente nei maschi sotto i 50 anni e il terzo più frequente nelle femmine sotto i 50 anni. Ogni anno in Italia vi sono circa 12.300 nuovi casi, con una lieve preponderanza (54%) per il sesso maschile, ma con un trend d'incidenza in crescita. Nonostante il notevole aumento di incidenza, la mortalità è sostanzialmente stabile, intorno all'1%.¹

1.2 Eziologia

Il melanoma è ad oggi considerato una patologia multifattoriale, che origina dall'interazione tra suscettibilità genetica ed esposizione ambientale.

Il fattore di rischio ambientale più importante e potenzialmente modificabile è l'esposizione solare intermittente, per l'effetto genotossico dei raggi ultravioletti:

- Evidenze cliniche ed epidemiologiche dimostrano tassi maggiori di melanoma in soggetti con esposizione ripetuta o estensiva ai raggi solari. La maggioranza dei melanomi si sviluppa su pelle esposta al sole, soprattutto in aree che sono più suscettibili alle scottature. Gli individui con pelle naturalmente scura o che si abbronzano facilmente hanno minore incidenza di melanoma, supportando il concetto che la maggiore penetrazione dei raggi UV nella pelle porti ad un aumentato rischio.²
- Da una revisione sistematica della letteratura su studi caso-controllo è emerso che l'esposizione intermittente e le scottature in adolescenza o nell'infanzia sono fortemente associate ad un incrementato rischio di melanoma, mentre l'esposizione lavorativa non provoca un aumento del rischio.³
- L'incidenza geografica di melanoma è maggiore nelle aree equatoriali e diminuisce proporzionalmente con la distanza dall'equatore e con i rispettivi minori livelli di esposizione, una volta corretti per il tipo di pelle.⁴

Tra i fattori legati all'ospite, sicuramente il fototipo chiaro, gli occhi azzurri, i capelli rossi e l'alta densità di lentiggine sono associate ad un rischio di melanoma incrementato da 2 a 4 volte.⁵

Vari studi dimostrano una forte associazione tra numero totale di nevi e melanoma. Il rischio relativo associato varia tra 1,6 e 64 a seconda dello studio, con un effetto dose-risposta basato sul numero dei nevi presenti. Il cut-off generalmente più utilizzato è 50-100 nevi, associato ad un rischio relativo di 5-17, anche se una più recente metanalisi ha mostrato che il rischio possa essere già incrementato negli individui con più di 25 nevi.⁶

Un'anamnesi positiva per melanoma è associata ad un elevato rischio di sviluppare un secondo melanoma cutaneo primitivo. Nonostante il rischio sia maggiore nel primo anno dalla diagnosi, la stima di sviluppare un secondo melanoma a 5 anni risulta essere tra il 2 e l'11 per cento.⁷

I nevi atipici sono lesioni melanocitarie acquisite benigne che condividono alcune caratteristiche del melanoma, quali l'asimmetria, i bordi irregolari, la colorazione disomogenea, il diametro maggiore di 5 mm. Talvolta gli aspetti istopatologici di alcuni nevi clinicamente atipici possono essere del tutto tranquillizzanti, ma a livello epidemiologico un numero elevato di nevi atipici può correlare con un aumentato rischio di melanoma; una metanalisi di studi osservazionali, infatti, ha evidenziato che il rischio relativo di sviluppare un melanoma è di 1.5 nei soggetti con un nevo atipico e di 6.36 nei soggetti con 5 o più.⁸

1.3 Genetica

All'incirca il 10% dei pazienti affetti da melanoma presenta almeno un familiare di primo grado affetto dalla stessa patologia.¹ Tra i soggetti con anamnesi familiare di melanoma, il rischio è maggiore nei soggetti che presentano nevi displastici.⁹

Il principale gene di suscettibilità al melanoma è l'oncosoppressore CDKN2A; questo codifica per due proteine deputate al controllo negativo del ciclo cellulare: p15 e p16. Il tasso di mutazioni di questo gene è altamente variabile: è presente nel 19% dei pazienti con melanoma multiplo, con differente frequenza a seconda che vi sia o meno storia familiare di melanoma (36,6-58,8% nei casi familiari vs 8,2-17,6% nei casi sporadici).¹⁰ Recentemente è stato studiato in vitro il meccanismo di queste proteine e si è visto che la loro assenza porta ad una over-duplicazione dei centrosomi; questo suggerisce che nella progressione clinica del melanoma, la perdita sequenziale di p15 e p16 fornisca le condizioni perché la duplicazione del centrosoma perda la regolazione, con conseguente instabilità genomica.¹¹

1.4 Istologia

1.4.1 Fasi di crescita

Il melanoma ha due fasi di crescita principali: radiale, in cui la proliferazione di melanociti maligni è limitata all'epidermide, e verticale, dove i melanociti maligni formano dei nidi o noduli nel derma.

1.4.2 Sottotipi principali

MELANOMA A DIFFUSIONE SUPERFICIALE: è il sottotipo più comune, rappresentando circa il 75% di tutti i melanomi. La neoplasia mostra melanociti maligni relativamente grandi, epitelioidi, con nuclei grandi e citoplasma abbondante, con una distribuzione pagetoide, disposti in singole cellule o raggruppati in nidi.

LENTIGO MALIGNA-MELANOMA: insorge principalmente in zone fotodanneggiate. I melanociti neoplastici sono poligonali, con nuclei ipercromici e citoplasma ridotto, disposti lungo la giunzione dermo-epidermica secondo un pattern lentiginoso.

MELANOMA ACRALE LENTIGINOSO: insorge sulle superfici palmari, plantari, subungueali o mucose. I melanociti atipici sono disposti lungo la giunzione dermo-epidermica. La progressione è caratterizzata dalla presenza di grandi nidi giunzionali di melanociti atipici, che sono grandi e ipercromici con scarso citoplasma.

MELANOMA NODULARE: per definizione si tratta di melanoma insorgente con una crescita verticale. Presenta numerosi piccoli nidi tumorali di melanociti neoplastici epitelioidi o fusati, con mitosi frequenti, aggregati a formare un singolo nodulo grande.

1.5 Il Melanoma su nevo

Da una recente revisione della letteratura, risulta che il 29,1% di tutti i melanomi insorge associato ad un nevo, con un'età media di insorgenza di circa 4,9 anni inferiore ai melanomi cosiddetti "De Novo"; lo spessore è generalmente inferiore (0,39 mm in meno) e l'istotipo prevalente è il Melanoma a Diffusione Superficiale, con sede preferenziale a livello del tronco.¹²

Il melanoma in situ associato a nevo (Nevus-Associated Melanoma, NAM) nasce più frequentemente ai margini della lesione preesistente, piuttosto che al centro di essa. Il nevo preesistente mostra melanociti piccoli, tondi, organizzati in nidi, cordoni e strie, che spesso occupano il derma superficiale reticolare e mostrano una distribuzione periappendicolare (il "pattern congenito").¹³

La prima alterazione a comparire è l'aumentato numero di singoli melanociti lungo la giunzione, non necessariamente atipici; questo rende più difficile la distinzione tra melanoma in accrescimento, lesione benigna recentemente esposta a raggi UV, oppure lesione in adolescenti.

La diagnosi di melanoma in situ su nevo viene fatta quando vi è una differenza citologica sostanziale tra i melanociti epidermici e quelli del nevo preesistente, senza transizione tra i due tipi di cellule, e se le singole cellule si estendono solamente ad un lato oltre il confine della parte dermica del nevo.

Il melanoma infiltrante associato a nevo, invece, non presenta caratteristiche specifiche che lo distinguono dal melanoma de novo. Le cellule del nevo preesistente sono citologicamente distinte dai melanociti atipici soprastanti e appaiono dislocate; occasionalmente si possono trovare le cellule di melanoma insinuate tra i nidi del nevo preesistente.

Un melanoma su nevo può subire regressione e l'infiltrato infiammatorio sostituisce solamente la maggior parte del melanoma, mentre la parte di nevo rimane intatta, il che rende molto difficile la distinzione con un nevo in regressione.

Inoltre, il melanoma associato a nevo mostra una minore elastosi del derma nel tessuto adiacente la lesione, rispetto al melanoma de novo. Questo concorda con il paradigma emergente, secondo cui il NAM insorge da una sequenza distinta di eventi causali, che differisce da quella degli altri melanomi cutanei.¹²

Uno dei problemi principali dei NAM è la determinazione dello spessore secondo Breslow, soprattutto quando le cellule del melanoma sono piccole e rotonde, simili a quelle della porzione profonda della lesione.

Il melanoma insorgente nella porzione intradermica del nevo è più raro ed è associato tipicamente a nevi congeniti o giganti. Pertanto, l'età di incidenza è inferiore (13 anni in media). Solitamente è costituito da grandi cellule epitelioidi con alto tasso mitotico; più raramente si possono trovare pattern "nevoidi" (con piccoli melanociti rotondi) o melanomi "blue nevus-like" (con melanociti grandi, atipici, fusati, con dendriti citoplasmatici contenenti melanina).

La diagnosi di neoplasia è quindi basata sull'alto tasso mitotico, la necrosi cellulare e la presenza di un pattern solido di crescita; la sola presenza di differenziazione eterologa non è sufficiente a diagnosticare l'evoluzione maligna di un nevo, poiché questa può portare spesso a diagnosticare erroneamente come "maligne" delle lesioni tipicamente benigne dei nevi melanocitici congeniti giganti.¹³

I pazienti con melanoma associato a nevo hanno una sopravvivenza maggiore rispetto al melanoma insorgente de novo.¹⁴ Inoltre, si perde la differenza di genere, che prevedeva una sopravvivenza significativamente inferiore per i pazienti maschi rispetto alle donne nei melanomi de novo.

1.6 Stadiazione

Secondo l'ultima stadiazione effettuata dall'AJCC nel 2018, il melanoma si può classificare secondo i seguenti parametri.^{1,15}

Categoria T		Ulcerazione
T1 ≤1,0 mm	T1a: < 0,8 mm	Assente
	T1b: < 0,8 mm	Presente
	0,8 ÷ 1 mm	Assente/presente
1,0 mm < T2 ≤ 2,0 mm	T2a	Assente
	T2b	Presente
2,0 mm < T3 ≤ 4,0 mm	T3a	Assente
	T3b	Presente
T4 > 4,0 mm	T4a	Assente
	T4b	Presente

Categoria N	N° linfonodi regionali coinvolti	Metastasi in-trasnit, satelliti e/o microsatellitosi
N1	N1a: 1 LN clinicamente occulto (Biopsia LS)	Assenti
	N1b: 1 LN dimostrato clinicamente	Assenti
	N1c: LN regionali non coinvolti	Presenti
N2	N2a: 2 o 3 LN clinicamente occulti	Assenti
	N2b: 2 o 3 LN, di cui ≥ 1 dimostrato clinicamente	Assenti
	N2c: 1 LN occulto o dimostrato	Presenti
N3	N3a: 4 o più LN clinicamente occulti	Assenti
	N3b: 4 o più LN, di cui ≥ 1 dimostrato clinicamente	Assenti
	N3c: 2 o più LN occulti o dimostrati Oppure Presenza di pacchetti linfonodali	Presenti

Categoria M	Sede anatomica
M1	M1a: metastasi a distanza a cute o tessuti molli, compreso il muscolo e/o LN non regionali
	M1b: metastasi a distanza al polmone, con o senza sedi di malattia M1a
	M1c: metastasi a distanza con sedi viscerali, diverse dal SNC, con o senza sedi di malattia M1a o M1b
	M1d: metastasi a distanza al SNC, con o senza sedi di malattia M1a, M1b o M1c

1.7 Prognosi

La sopravvivenza a 5 anni per i melanomi cutanei in Italia è pari all'87%. Esiste un forte gradiente per età: passa dal 94% registrata nei pazienti giovani (15-44 anni) al 73% dei pazienti anziani (75+).

La probabilità di sopravvivere a 5 anni dalla diagnosi, dopo il primo anno di sopravvivenza, è pari all'89,6% negli uomini e 91,4% nelle donne, mentre la probabilità di sopravvivere essendo sopravvissuti al 5° anno dalla diagnosi sale al 99% e al 97,9% rispettivamente per gli uomini e le donne. ¹

1.8 Cenni di terapia

La chirurgia è il trattamento di elezione per il melanoma negli stadi iniziali di malattia. Nel caso di melanomi sottili (<0,8 mm), alla biopsia escissionale della lesione primitiva segue un intervento di radicalizzazione mediante ampliamento del piano cicatriziale. I margini raccomandati dalle linee guida AIOM dipendono dallo spessore del tumore: 5 mm per i melanomi in situ, 1 cm per spessori fino a 2 mm e 2 cm se lo spessore di Breslow supera i 2,0 mm. ^{1,16,17}

Nei casi di melanoma primitivo con uno spessore maggiore di 0,8 mm, oppure in presenza di ulcerazione anche se con spessore inferiore a 0,8 mm (pT1b), contestualmente all'ampliamento del piano cicatriziale si effettua la biopsia del linfonodo sentinella. Recentemente, lo studio MSLT-II ha dimostrato che la dissezione linfonodale non determina una differenza statisticamente significativa in termini di sopravvivenza specifica per melanoma (endpoint primario dello studio) rispetto alla sola osservazione. Pertanto, tranne in casi selezionati, dopo la biopsia del linfonodo sentinella non risulta più necessaria la dissezione linfonodale, ma è indicato il solo follow-up. ¹⁸

Il trattamento adiuvante del melanoma è contemplato nei casi ad alto rischio di recidiva, ovvero in presenza di una lesione primitiva molto spessa o ulcerata (stadio IIB-IIC), o in caso di positività metastatica dei linfonodi (stadio III).¹⁹ Per gli stadi avanzati di malattia, la gestione del paziente diventa di pertinenza oncologica.

CAPITOLO 2: Immagini digitali

2.1 Whole Slide Imaging

L'istopatologia si basa essenzialmente sull'interpretazione accurata di immagini microscopiche, al fine di diagnosticare correttamente i pazienti e guidare le scelte terapeutiche. Negli ultimi anni, grazie al rapido sviluppo delle tecniche di scansione ed elaborazione delle immagini, ha visto forti cambiamenti: il principale è sicuramente il passaggio dagli oculari del microscopio allo schermo del computer. Ciò ha portato a numerosi vantaggi, non possibili con la microscopia classica, come la collaborazione digitale/telepatologia, l'integrazione con flussi di lavoro elettronici e la storia clinica del paziente, ma soprattutto il supporto diagnostico che può fornire l'intelligenza artificiale.

La tecnica di Whole Slide Imaging (WSI) consiste nella digitalizzazione di interi preparati istopatologici o di aree preselezionate. Questo processo include quattro fasi sequenziali: l'acquisizione dell'immagine (scansione), l'archiviazione, l'editing e la visualizzazione dell'immagine sullo schermo.

La scansione procede tramite l'acquisizione di strisce successive di tessuto, la cui ampiezza dipende dall'obiettivo dello strumento; queste vengono poi assemblate per ricreare l'immagine digitale dell'intero vetrino.

Nell'ambito della patologia digitale, il concetto di ingrandimento e risoluzione va riconsiderato nel contesto in cui le immagini sono acquisite e visualizzate. Il concetto di ingrandimento comunemente considerato nella microscopia ottica (in cui il 20x dell'obiettivo e il 10x dell'oculare risultano in un ingrandimento totale di 200x) non si può applicare al campo di WSI, poiché le immagini vengono visualizzate su monitor di dimensioni e risoluzioni differenti che possono amplificare o ridurre l'ingrandimento originale. Pertanto, la risoluzione, misurata in micrometri per pixel, è definita dal sensore ottico e dall'obiettivo usato per scansionare il vetrino. La maggior parte degli scanner è dotata di obiettivi da 20x e 40x; a questi corrispondono rispettivamente una risoluzione di 0,5 mm per pixel e 0,25 mm per pixel. L'obiettivo da 20x è adatto alla maggior parte delle valutazioni istopatologiche ed è considerato lo standard per le immagini scansionate, poiché rappresenta un buon compromesso tra tempi di scansione e qualità delle immagini. La scansione dei vetrini con l'obiettivo da 40x porterebbe alla quadruplicazione dei tempi di acquisizione e della dimensione del file finale, incrementando i tempi di lavorazione di

ogni vetrino e dei costi di archivio. Si tenga presente che l'immagine di un singolo vetrino acquisito con WSI a 20x occupa circa 600 MB di memoria.

Una nota importante riguarda l'estensione dei file acquisiti: il formato .svs viene utilizzato come standard per le immagini di grandi dimensioni, come quelle ottenute con WSI. Questo perché, rispetto ad un formato standard, contiene al suo interno più versioni dell'immagine a varie risoluzioni; questo permette di migliorare le performance dei software di visualizzazione, che non hanno bisogno di caricare l'intera immagine ad alta risoluzione e poi ridurne la scala per mostrarla a basso ingrandimento.

La scansione in campo chiaro simula la visione con i microscopi classici ed è l'approccio più comune e conveniente; con la gestione digitale delle immagini, è possibile collegare al singolo vetrino le immagini di altre tecniche, come l'immunoistochimica o la fluorescenza, con la necessità, però, di acquisire in un secondo tempo anche queste altre.

Nonostante la tecnica di WSI sia relativamente matura, fa ancora fatica ad essere integrata nei laboratori di istopatologia per la diagnosi primitiva. Questo è dovuto principalmente ad alcuni svantaggi sia reali che percepiti. Il dubbio principale dei patologi, non del tutto infondato, è la qualità delle immagini digitali: infatti, vi sono molti fattori, come la risoluzione, la compressione dell'immagine e soprattutto l'algoritmo di messa a fuoco, che giocano un ruolo chiave nell'interpretazione del preparato.

Un altro punto a sfavore riguarda il flusso del lavoro. La scansione dei vetrini è un passaggio aggiuntivo che richiede tempo. Nonostante i progressi tecnologici, il tempo medio per l'acquisizione di un vetrino è calato negli anni, ma ad oggi risulta essere tra i 5 e 10 minuti, a seconda del numero di fettine presenti nella slide, per un singolo ingrandimento; con la microscopia tradizionale, il patologo ha a disposizione tutti gli ingrandimenti contemporaneamente, mentre l'aggiunta di un ingrandimento in digitale richiede l'acquisizione in un secondo tempo.

Il vantaggio si ottiene a lungo termine; una volta acquisite ed archiviate le immagini, diventa possibile recuperare istantaneamente lo storico di un paziente, così come confrontare il campione con dei precedenti o diverse zone dello stesso vetrino, o condividerle con un altro patologo per consulenze (telemedicina). Inoltre, diventa possibile includere annotazioni sul file, oltre che inserirvi allegati, come le immagini ottenute con altre colorazioni o la dermatoscopia della lesione.

In aggiunta, come avviene per la radiologia digitale, diventa possibile fornire al paziente una copia delle immagini dei suoi campioni, senza fornire il vetrino e rischiare quindi di perdere il materiale con conseguenze di carattere medico-legale.

2.2 Dermatoscopia

La dermatoscopia è una tecnica in vivo non invasiva, utilizzata primariamente per l'esame obiettivo diretto di lesioni pigmentate della pelle. Viene eseguita tipicamente con il dermatoscopio manuale, ma per eseguire controlli sequenziali è necessario affidarsi alla videodermatoscopia, che permette di archiviare le immagini e di confrontarle.

In condizioni normali, la maggior parte della radiazione luminosa viene riflessa dalla cute, a causa del maggiore indice di rifrazione dello strato corneo rispetto all'aria. Per ridurre la rifrazione e poter osservare quindi le strutture epidermiche più profonde, si può utilizzare un fluido di immersione tra il vetro dello strumento e lo strato corneo; sono preferibili soluzioni alcoliche al 70% per lo strato corneo e gel a base d'acqua per lo studio delle mucose.²⁰

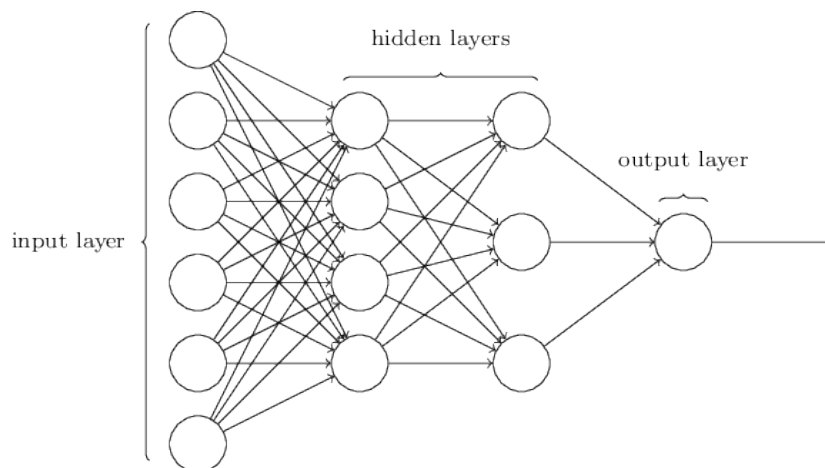
In alternativa, si può scegliere di utilizzare una fonte di luce polarizzata. Parte di questa viene riflessa dallo strato corneo, mentre un'altra parte penetra nella pelle e viene ridistribuita agli strati profondi, perdendo la polarizzazione. Con un filtro cross-polarizzato, la luce riflessa dal corneo verrà bloccata, permettendo di visualizzare quella proveniente dagli strati profondi che passa il filtro, rendendo così visibili all'occhio le strutture sottosuperficiali.²¹

La videodermatoscopia permette di semplificare la visualizzazione delle immagini, il processo di acquisizione, archivio, organizzazione, analisi e recupero. Si tratta di un sistema dotato di una videocamera ad alta risoluzione che permette di acquisire in formato digitale le immagini dermatoscopiche, con diversi livelli di zoom, ma soprattutto consente il monitoraggio evolutivo delle lesioni. Si è visto che nei pazienti con nevi multipli, un imaging sequenziale dermatoscopico è una strategia utile per evitare di perdere dei melanomi e al contempo ridurre le asportazioni chirurgiche di lesioni benigne.

CAPITOLO 3: Machine Learning e Deep Learning

3.1 Reti neurali

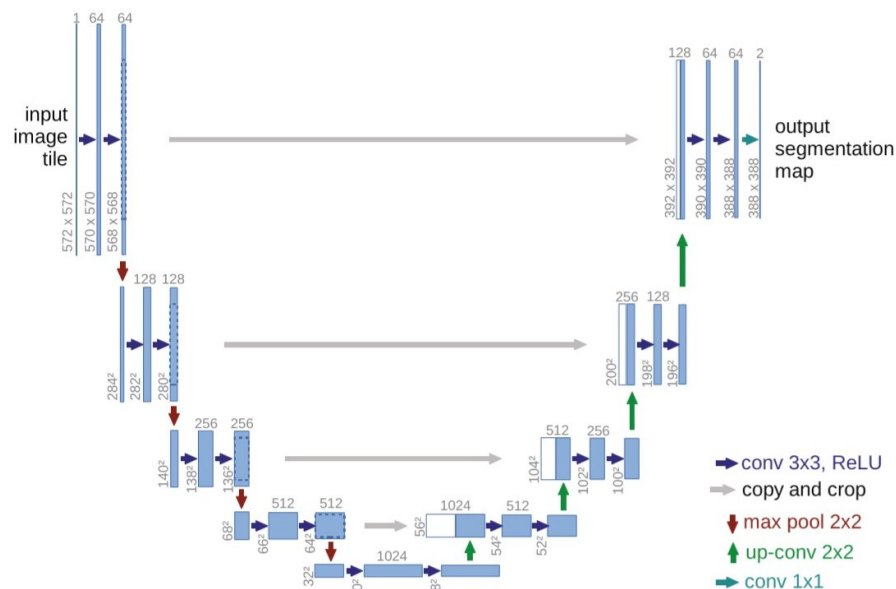
Una rete neurale è un modello matematico costituito da una serie di neuroni artificiali, ispirato alle reti neuronali biologiche. Ogni neurone riceve in ingresso più segnali di input, ognuno dei quali viene moltiplicato per il peso (ovvero l'importanza di quella "sinapsi"); se la somma di questi prodotti supera una certa soglia, il neurone "scarica", dando in uscita un segnale di output. I singoli neuroni vengono poi collegati ad una serie successiva di neuroni, in modo da costituire una vera e propria rete a strati gerarchici; l'idea è nata dallo studio della corteccia visiva, in cui le informazioni vengono processate in strati successivi. In modo simile, incrementando gli strati, la rete diventa più complessa e quindi in grado di discriminare un numero maggiore di pattern (nel campo dell'intelligenza artificiale si considera pattern la regola di associazione tra valori osservati e realtà sottostanti).



La caratteristica peculiare di queste reti è la capacità di apprendimento: in base alla distanza tra il valore di output e il valore atteso, la macchina andrà a regolare i pesi, per far sì che la differenza sia sempre minore, ma mai nulla; in questo caso, infatti, non si parlerebbe più di apprendimento ma di memorizzazione, poiché la macchina non avrebbe creato un modello in grado di generalizzare, bensì imparato una tecnica di semplice riconoscimento.

Nel campo delle analisi di immagini biomediche, recentemente è stata sviluppata la U-Net, una rete neurale convoluzionale, che permette di segmentare le immagini in modo più efficiente. L'architettura della rete prevede una prima parte di "contracting path", in cui le informazioni dell'immagine vengono codificate in livelli successivi di dimensioni

minori, per poi essere elaborate e decodificate in un “expanding path” simmetrico al precedente, che fornisce in output un’immagine della stessa dimensione di quella in input, ma che ne rappresenta l’elaborazione, come ad esempio una maschera di segmentazione. La caratteristica peculiare di questa rete è la presenza di interconnessioni tra i vari livelli di contraction/expansion che permette una localizzazione precisa dell’informazione in output sull’immagine di partenza. Infatti, per predire il contenuto dei pixel delle aree di confine, il contenuto mancante viene estrapolato dall’immagine di partenza. In questo modo, la rete riesce anche ad elaborare immagini molto grandi in tempi ridotti. In termini numerici, una GPU moderna riesce ad elaborare immagini 512x512 pixel in meno di 1 secondo.²³ Tenendo conto che le immagini di WSI sono circa 40'000x90'000 pixel, questo implica che la potenza di calcolo necessaria per poter gestire queste immagini è ancora di molto superiore alle macchine diffuse al giorno d’oggi.



3.2 Apprendimento

Per addestrare la macchina, esistono diversi modelli:

- Apprendimento supervisionato: l’algoritmo costruisce un modello matematico da un set di dati contenenti gli input etichettati e i relativi output attesi; si testa poi la solidità di questo modello su un secondo set di dati, mai visti prima dalla macchina. Un’applicazione in dermatologia si trova nel campo della diagnosi dermatoscopica di melanoma: la macchina cerca di prevedere la natura della lesione, basandosi sulla diagnosi di numerose immagini simili, fornite in input.

- Apprendimento non supervisionato: viene somministrata alla macchina una serie di dati non etichettati, con l'obiettivo che questa trovi una struttura negli input forniti, come il raggruppamento o il clustering di punti. Un esempio pratico è la ricerca di sottopopolazioni nei tumori: si carica in input il sequencing genetico di diversi tipi di tumore, aspettandosi che la macchina trovi una correlazione tra DNA e neoplasie.
- Apprendimento semi-supervisionato: è un approccio intermedio tra i due precedenti; la macchina deve costruire un modello partendo da una combinazione di dati etichettati e dati grezzi. In questo modo, si possono ridurre i costi necessari alla preparazione dei dati iniziali e velocizzare il processo.
- Apprendimento per rinforzo: impiegato principalmente per risolvere problemi di decisioni sequenziali, non richiede input etichettati, ma un feedback o una "ricompensa" per incoraggiare i comportamenti corretti e quindi migliorare seguendo quel percorso. In ambito medico non trova molta applicazione, ma l'idea sarebbe quella di una macchina che faccia diagnosi accanto al medico e che riceva un rinforzo positivo o negativo a seconda della concordanza con la diagnosi medica; in questo modo, aggiornando i processi interni, potrebbe continuare a imparare.

3.3 Processing delle immagini

Per far sì che la macchina sia in grado di elaborare immagini di grandi dimensioni, come quelle ottenute con WSI, è necessario suddividerle in regioni più piccole (*patch*); la dimensione di queste deve però tenere conto di due fattori: devono contenere una quantità sufficiente di informazioni per essere interpretabili; inoltre devono mantenere un certo grado di rappresentatività dell'immagine originale.

Se le patch sono troppo piccole, posso avere un'immagine non informativa o un'immagine con caratteristiche specifiche di una regione; utilizzandole nelle tecniche di machine learning, il rischio è che la macchina regoli l'algoritmo sulle caratteristiche sbagliate. Sebbene questo possa sembrare un limite della patologia digitale, basti pensare che anche il patologo farebbe fatica a fare una diagnosi osservando una piccola regione, invece dell'intera slide.

Uno degli step fondamentali nel processing delle immagini è la normalizzazione, per assicurarsi che le diverse caratteristiche abbiano un effetto simile sulla risposta.

Successivamente, si esegue una *Augmentation* delle immagini, ovvero un'elaborazione su alcune delle caratteristiche, come ad esempio la rotazione, la traslazione, l'ingrandimento/rimpicciolimento; in questo modo si riesce ad ampliare artificialmente il dataset iniziale e, al tempo stesso, evitare l'overfitting (ovvero la tendenza alla memorizzazione).²⁴

3.4 Segmentazione con una rete neurale

Esistono diverse tecniche che possono essere utilizzate nei compiti di riconoscimento degli oggetti.

La *Classificazione* consiste nell'attribuire ogni immagine sottoposta alla macchina ad una delle categorie che ha precedentemente imparato a conoscere. L'elaborazione è quindi più semplice, ma richiede quantità maggiori di dati da cui poter apprendere. Nel campo della dermatologia sta prendendo piede, soprattutto legata al riconoscimento dermatoscopico delle lesioni.

L'*Object Detection* riconosce la presenza degli oggetti e la loro posizione all'interno dell'immagine, posizionandoli all'interno di riquadri detti *Bounding Box*; un esempio comune è il riconoscimento dei volti nelle fotocamere moderne.

La *Segmentazione* è il processo di partizionamento dell'immagine in regioni distinte che hanno caratteristiche comuni, pertanto tutti i pixel in una regione condividono una qualche caratteristica, proprietà e/o identità (colore, intensità o texture); si divide in *Semantic Segmentation* e *Instance Segmentation*. Nel primo caso, la macchina attribuisce ogni pixel dell'immagine ad una classe, cercandone quindi il significato; con l'*Instance Segmentation*, invece, si combinano aspetti di *Object detection* con *Semantic segmentation*. Oltre a riconoscere i vari elementi che compongono un'immagine, e quindi i contorni dei singoli oggetti, attribuisce poi ad ognuno la classe di appartenenza. Questa tecnica risulta quindi essere la più avanzata ma anche la più impegnativa dal punto di vista dell'elaborazione, al costo della necessità di maggiore lavoro da parte dello specialista. La classificazione, infatti, richiede in input solamente le immagini e la diagnosi complessiva, mentre per una segmentazione è necessario specificare le categorie delle singole parti dell'immagine, per cui servono tempo e competenze. Questo investimento di tempo da parte di umani competenti è la ragione numero uno per cui

queste tecniche non sono ancora molto diffuse, mentre la ricerca si sta concentrando sulla classificazione.²⁵


3.5 Metodi di valutazione

Per valutare le performance dei metodi di segmentazione, abbiamo a disposizione vari metodi di misura: la sensibilità può essere misurata in termini di Veri Positivi e Falsi Negativi; a livello di pixel, un vero positivo significa che quel pixel appartiene effettivamente alla classe predetta dalla macchina. Questa misura indica la proporzione di positivi correttamente classificati.

La precisione, simile alla precedente, prende in considerazione i falsi positivi; indica la probabilità di una corretta segmentazione se la predizione è positiva.

La specificità indica la proporzione dei negativi segmentati correttamente.

Intersection over Union (IoU) è il metodo più usato per valutare le tecniche di segmentazione. Si tratta di un semplice rapporto matematico: al numeratore c'è l'area di sovrapposizione tra il box predetto dalla macchina e il box reale dell'oggetto; al denominatore l'area di unione, cioè la somma delle aree dei due box.

$$\text{IoU} = \frac{\text{Area of Overlap}}{\text{Area of Union}}$$


Si evince che maggiore sarà il valore del rapporto (quindi quanto più si avvicinerà ad 1), più il sistema sarà preciso nell'identificare il suo target, in quanto c'è minore differenza tra l'area riconosciuta e quella da riconoscere.²⁶

Il criterio utilizzato per l'addestramento può cambiare completamente i risultati; inoltre, il criterio che si vuole ottimizzare dipende molto dal tipo di problema che si sta studiando, pertanto non esiste una soluzione universale. Ad esempio, nella diagnosi di melanoma è più grave un falso negativo di un falso positivo.

PARTE SPERIMENTALE

Introduzione e obiettivi

Il melanoma è il tumore della pelle più severo, responsabile del maggior numero di morti per tumori della pelle. Come per la maggior parte dei tumori, la diagnosi è ottenuta tramite biopsia tissutale. La procedura standard prevede di tagliare la biopsia del tessuto in fette e successivamente trattarle con diversi metodi istopatologici, prima che venga osservata da un patologo. Per la prima valutazione si utilizza solitamente la colorazione con Ematossilina ed Eosina (H&E). In base a questa, il patologo decide se sono necessarie ulteriori colorazioni o se procedere con la diagnosi di nevo. Se la lesione è sospetta per melanoma, il patologo ordinerà ulteriori analisi immunoistochimiche di conferma.

Il gold standard diagnostico attuale è la valutazione istologica di un dermatopatologo. Studi recenti hanno mostrato un'ampia variabilità tra operatori (circa il 25%) nel distinguere tra nevi benigni e melanoma, mentre le tecniche di Deep Learning applicate ad altri campi di istopatologia, come il tumore della mammella e il carcinoma polmonare non a piccole cellule, hanno mostrato maggiore riproducibilità nel confronto con gruppi di patologi esperti.

Obiettivo dello studio è quello di individuare un metodo aggiuntivo all'istopatologia che permetta di ottenere una diagnosi "computer-aided". Il nostro studio, infatti, non vuole andare a sostituire il gold standard diagnostico, bensì rafforzare le conoscenze attuali con l'aiuto della tecnologia per migliorare e velocizzare il lavoro del patologo, fornendo uno strumento che possa aiutare a focalizzarne l'attenzione su aree precise del preparato dove si ha la più alta concentrazione di raggruppamenti di cellule con atipie, e in futuro fornire una selezione di codici di priorità codificando preparati a basso, intermedio ed alto rischio.

Metodi

Popolazione dello studio

In questo studio abbiamo arruolato in modo retrospettivo tutti i pazienti afferenti all'ambulatorio Melanoma di questo Policlinico che riferivano in cartella una diagnosi di melanoma su nevo, asportato tra il 01/01/2015 e il 01/10/2019. Abbiamo poi selezionato i casi di cui erano disponibili le immagini dermatoscopiche all'interno dei nostri server.

Il nostro ambulatorio esegue il follow up dei pazienti che hanno già asportato un melanoma; nel caso di prima diagnosi, se l'asportazione non è stata eseguita presso la nostra UO, non sono state acquisite le immagini dermatoscopiche delle lesioni.

Successivamente, abbiamo selezionato i casi i cui preparati istopatologici fossero idonei alla scansione: sono infatti stati esclusi i casi al momento impegnati in altri studi e quelli i cui vetrini presentavano difetti, come la presenza di annotazioni manuali del patologo.

Sono stati successivamente revisionati e riclassificati secondo le ultime linee guida WHO 2018.

Criteri di inclusione

- Pazienti affetti da melanoma associato/insorto su nevo
- Presenza di materiale iconografico e dermatoscopico nei nostri database
- Preparati istologici idonei alla scansione

Criteri di esclusione

- Mancanza di storia clinica (paziente che ha eseguito follow-up presso altra sede)
- Mancanza di immagini dermatoscopiche
- Preparati presentanti artefatti

Raccolta dati

Abbiamo raccolto i seguenti dati:

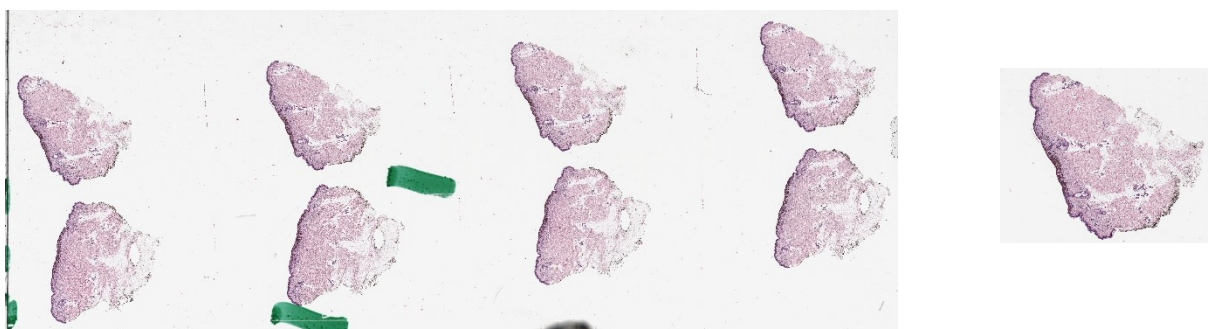
- **Elenco dei casi di melanoma su nevo:** nel laboratorio di dermatopatologia è disponibile un software che consente la ricerca dei casi per diagnosi istologica; abbiamo ricercato tutti i casi catalogati come melanoma e su questi abbiamo eseguito la ricerca manuale del termine “nevo”.
- **Informazioni cliniche dei pazienti:** dati demografici (sesso ed età alla diagnosi), sede anatomica, tipo istologico, fase di crescita, spessore secondo Breslow, presenza di regressione e stadiazione patologica WHO 2018.
- **Immagini dermatoscopiche:** grazie alla recente messa in rete delle apparecchiature di videodermatoscopia ad epiluminescenza del nostro Policlinico (FotoFinder Dermoscope), è stato possibile recuperare le immagini delle lesioni prima che venissero asportate all'interno della nostra clinica, tramite ricerca manuale dei casi precedentemente selezionati.

- **Immagini istopatologiche:** abbiamo ricercato i vetrini negli archivi del laboratorio di dermatopatologia. Abbiamo poi proceduto alla scansione con lo scanner Aperio AT2 della Leica Biosystems Imaging. Abbiamo caricato i vetrini nel rack per la scansione automatica; per ogni vetrino abbiamo controllato che i punti di fuoco fossero distribuiti omogeneamente sull'area da acquisire e selezionato solamente l'area contenente tessuto, per velocizzare i tempi di scansione. Abbiamo quindi lanciato la scansione automatica in campo chiaro a 20x con obiettivo Plan Apo 20x/0,75 NA. Nei casi in cui la macchina incontrava difficoltà nella messa a fuoco o nell'acquisizione, abbiamo caricato i vetrini singolarmente nel vassoio di scansione manuale. Le immagini istopatologiche sono poi state revisionate da un anatomopatologo secondo la nuova classificazione WHO 2018, per ridefinire lo stadio e valutare le caratteristiche del tumore non precedentemente esplicitate (presenza di regressione, infiltrato linfocitario).

Training della rete neurale

Non avendo indicazioni sulla linea di taglio, poiché generalmente non annotata, abbiamo focalizzato la nostra attenzione su casi in cui era presente simmetria radiale alla dermatoscopia, per avere la certezza di ritrovare aree di nevo e aree di melanoma all'interno delle sezioni analizzate.

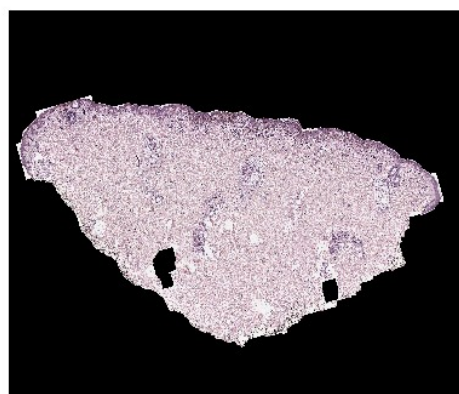
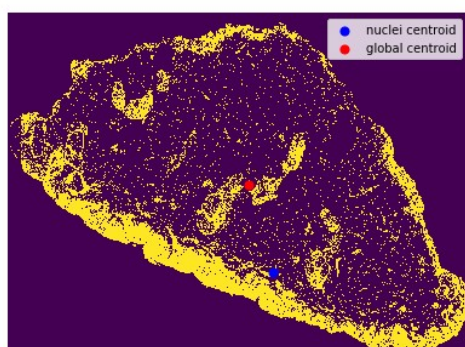
Su ogni vetrino sono presenti dalle 2 alle 6 fette di tessuto per ogni campione biologico; per ridurre i tempi e la quantità di memoria di calcolo necessari per elaborare le immagini, si ritagliano le slide acquisite con WSI per avere una singola fetta di tessuto per ogni immagine. In termini numerici, si passa da analizzare immagini con risoluzione 40'000 x 90'000 pixel, che richiedono 2,5 GB di RAM per la sola visualizzazione, ad analizzare porzioni di esse, ad esempio 10'000 x 10'000 pixel, che impiegano all'incirca 100 MB. Il vantaggio si esplica non solo a livello di ricerca, ma anche per una successiva applicazione clinica: le macchine utilizzate per questo studio, infatti, montano quantità elevate di memoria RAM (fino a 256 GB), ma i computer dei laboratori di istopatologia sono forniti di memorie standard (fino a 8 GB di RAM), per cui sarebbe impossibile eseguire il tool oggetto di questa tesi.



Ottenuta la singola fetta da ogni vetrino, abbiamo eseguito una binarizzazione, per selezionare effettivamente la porzione dell'immagine contenente tessuto ed eliminare lo sfondo ed altri artefatti (segni di pennarello, zone di vuoto all'interno del tessuto).



In seguito, abbiamo eseguito una rotazione, al fine di orientare l'epidermide verso l'alto. Per fare ciò è stato calcolato in primo luogo il baricentro dell'immagine. Si è poi proceduto andando a valutare la densità dei nuclei all'interno del vetrino, stimata in base all'intensità di colore (maggiore intensità di viola indica maggiore concentrazione di ematosilina, quindi di acidi nucleici), assumendo la zona più densa di nuclei come rappresentante l'epidermide; di questa zona viene calcolato il baricentro ed allineato verticalmente al precedente.

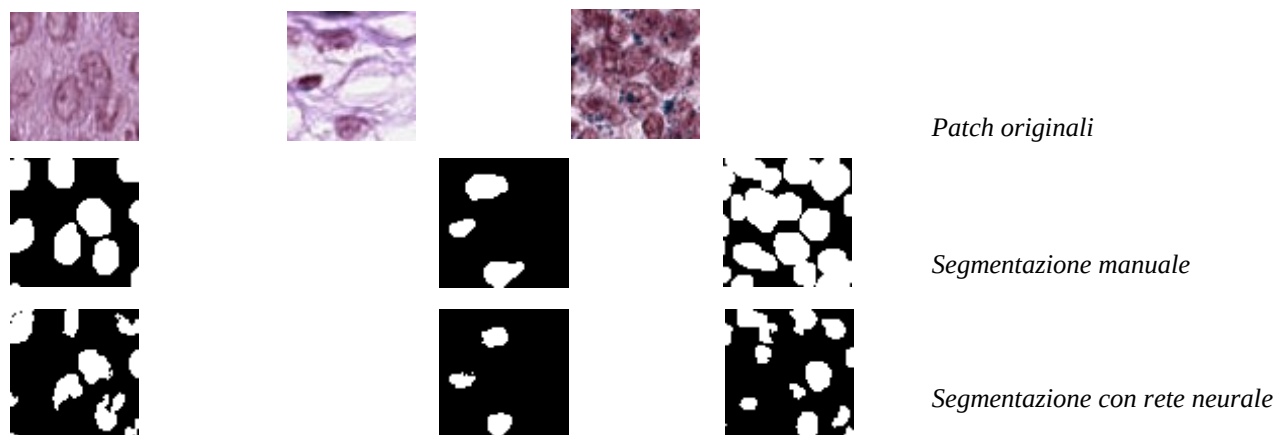


Per analizzare la distribuzione delle cellule è necessario riconoscerle; basandosi solo sull'intensità di colorazione con l'ematosilina, si ottengono molti falsi positivi, poiché, oltre agli acidi nucleici, lega altri composti basofili del citoplasma di diverse popolazioni cellulari, come ghiandole ed endoteli. Pertanto, abbiamo proceduto nell'addestramento di una rete neurale alla segmentazione dei singoli nuclei. Per fare ciò, è stato necessario fornire alla

macchina esempi di varie tipologie di nuclei correttamente etichettati, in modo che possa riconoscerli nei preparati istopatologici.

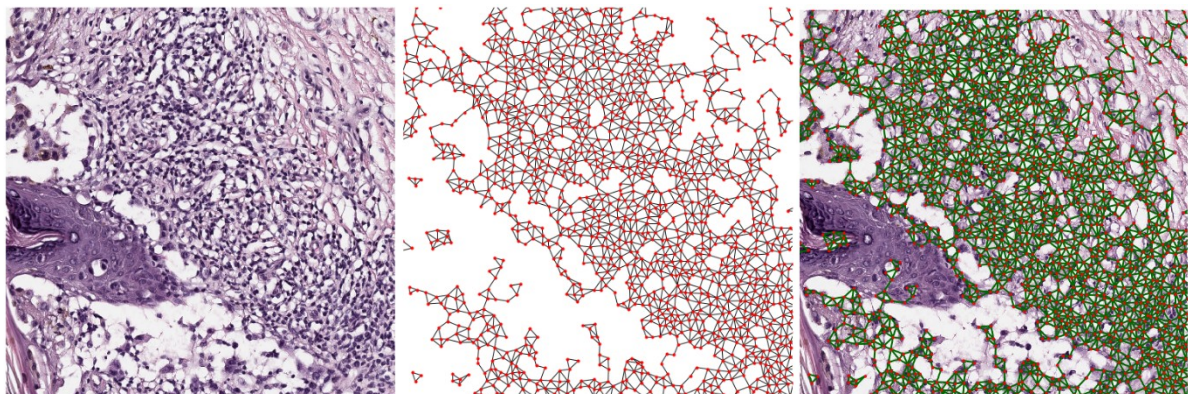
Per creare questo dataset sono state selezionate 68 patch (128x128 pixel) rappresentative di varie zone dell'epidermide; su queste sono stati segmentati manualmente tutti i nuclei presenti ed è stata creata una maschera binaria di etichettatura, colorando in bianco i nuclei e in nero tutto il resto.

Le patch etichettate sono poi state sottoposte ad Augmentation (rotazione, ribaltamento orizzontale e verticale) e somministrate alla macchina per l'addestramento al riconoscimento.

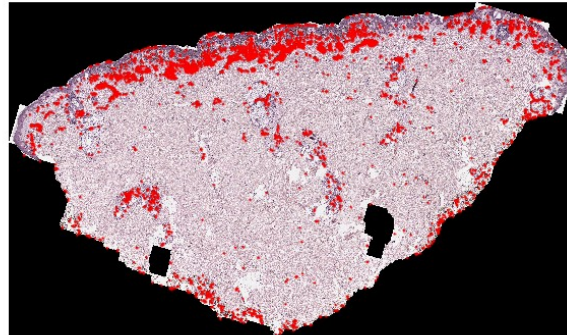


Per l'implementazione del modello è stato scelto come linguaggio di programmazione Python con particolare riferimento alla libreria “Semantic Segmentation Suite” disponibile online e basata interamente su TensorFlow.

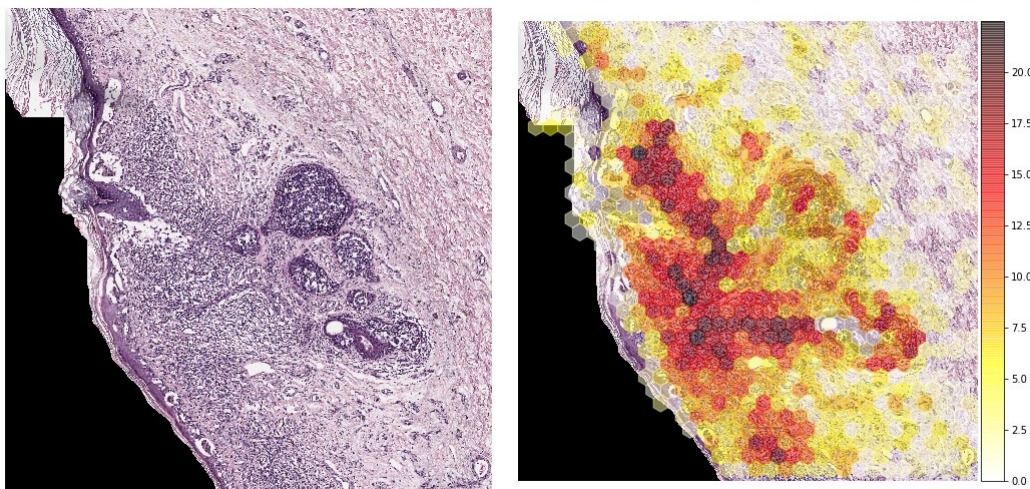
Abbiamo quindi somministrato alla macchina le immagini dei vetrini su cui riconoscere i nuclei; da questi abbiamo costruito una rete che li collegasse, in modo da studiarne la distribuzione nello spazio. Zone con poche cellule e molto distanti tra loro saranno meno indicative di malignità, poiché viene a mancare il carattere di policlonalità tumorale.



Per ogni nucleo si calcola poi la distanza morfologica dai nuclei più vicini e calcoliamo lo score. Otterremo quindi una mappa che indica con dei punti le zone con alta densità di nuclei eterogenei, quindi ampio polimorfismo, altro indice di malignità.



Combinando queste due caratteristiche, riusciamo a ricostruire una maschera sopra al vetrino originale che indica tramite mappa di colore le regioni in cui abbiamo molti nuclei vicini e morfologicamente eterogenei tra loro (policlonalità e polimorfismo), quindi fortemente predittive di malignità. In questa *heatmap* avremo quindi una scala di colore che rappresenta il grado di probabilità di malignità e, in termini pratici, le zone in cui il patologo deve concentrare la sua attenzione.



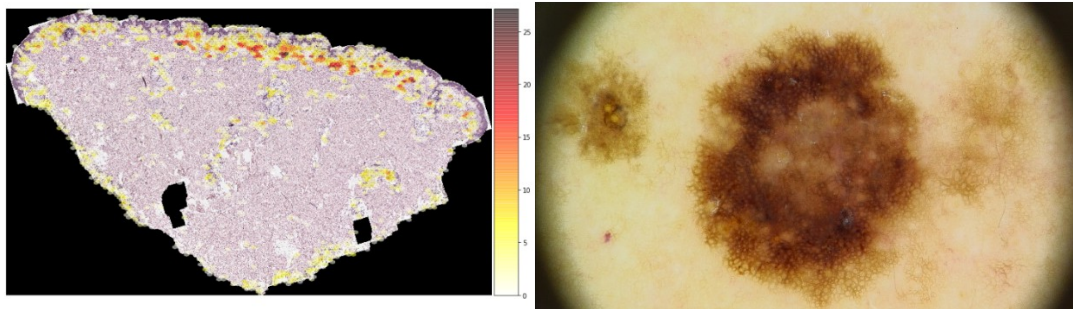
Risultati

Dopo l'applicazione dei criteri di inclusione, abbiamo selezionato 33 pazienti.

Variabile	n	%
Età		
<50	18	54,55
50-59	2	6,06
60-69	6	18,18
>70	7	21,21
Sesso		
Femmine	17	51,52
Maschi	16	48,48
Sede Anatomica		
Tronco	18	54,55
Testa-collo	3	9,09
Arti	12	36,36
Tipo istologico		
SSM	31	93,94
Acrale	2	6,06
Fase di crescita		
Radiale	29	87,88
Verticale	4	12,12
Breslow		
medio		0,33
<0,8	28	84,85
≥ 0,8	5	15,15
Regressione		
Presente	13	39,39
Assente	20	60,61
Stadio		
pTIS	2	6,06
pT1a	26	78,79
pT1b	2	6,06
pT2a	3	9,09

CASO N 1

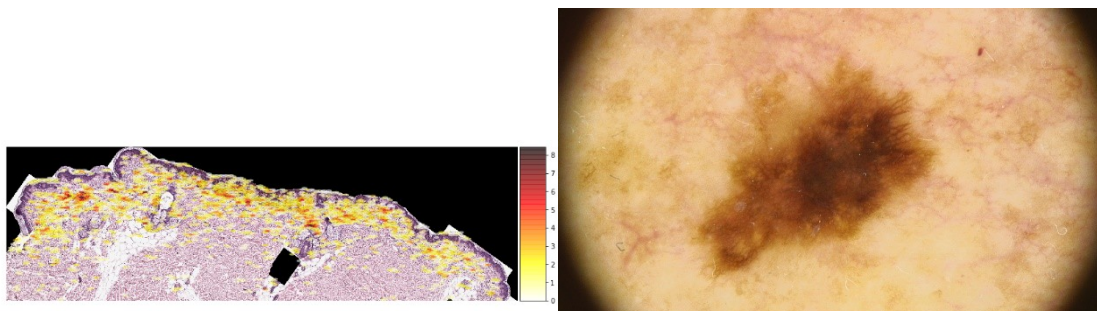
Uomo, 47aa, Melanoma a diffusione superficiale del dorso, a cellule epitelioidi, fase di crescita radiale, non ulcerato, Breslow 0,5 mm, TIL “Brisk”



A sinistra la heatmap generata dalla macchina, a destra la dermatoscopia della lesione. Si può notare una corrispondenza tra l'area segnata come “critica” dalla mappa e la zona centrale identificabile come melanoma, per la perdita del reticolo e la presenza di chiazze chiare al centro della lesione. Le zone segnate in giallo come aree a basso rischio del derma papillare coincidono con le aree del nevo: si vede, infatti un'interruzione tra la prima area gialla (corrispondente al nevo a sinistra nella dermatoscopia) e l'area della lesione principale.

CASO N 2

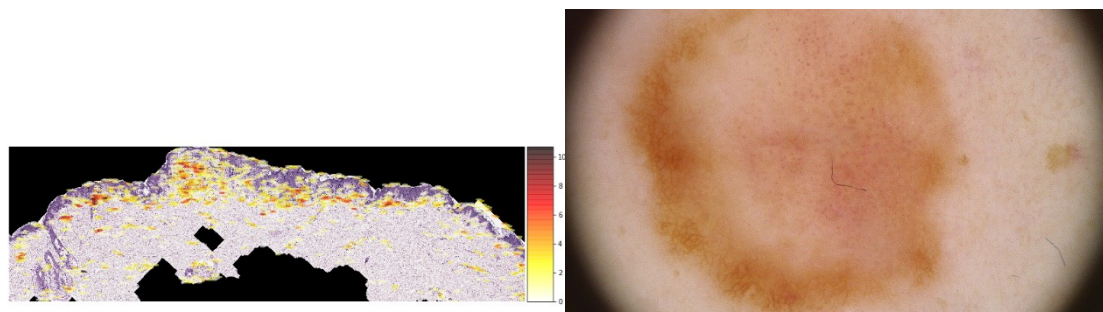
Donna, 68 aa, Melanoma a diffusione superficiale della spalla, a cellule epitelioidi, fase di crescita radiale, non ulcerato, Breslow 0,35 mm, TIL “non brisk”



In questo preparato, si può osservare l'asimmetria della regione colorata con la heatmap che ricalca l'asimmetria del tumore. Un punto interessante è il riconoscimento di regioni di atipia con distribuzione perifollicolare. In una delle regioni critiche, si concentra un infiltrato di linfociti; questo risulta essere un limite dell'algoritmo, su cui sarà necessario lavorare in futuro.

CASO N 3

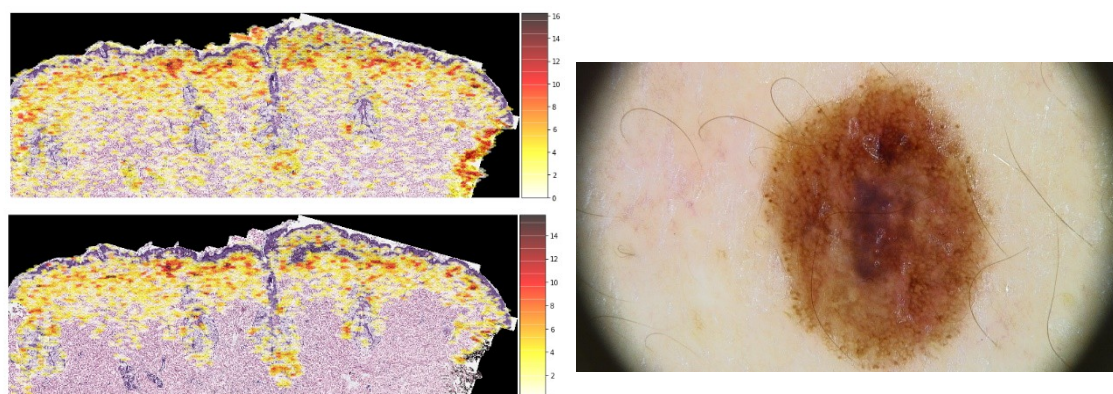
Donna, 18aa, Melanoma a diffusione superficiale della regione glutea, a cellule epitelioidi e fusate, fase di crescita radiale, non ulcerato, Breslow 0,55 mm, TIL assenti



La forte regressione tumorale presente nell'area centrale di questo preparato si riflette con una minore presenza di aree critiche (rosso scuro); la parte più spessa in giallo nella heatmap corrisponde alla parte di nevo presente al margine della lesione vista alla dermatoscopia. L'area più scura segnalata dall'algoritmo in questo caso corrisponde ad un "buco" nel tessuto, probabilmente ad un artefatto nato durante la preparazione del vetrino. L'occhio umano è perfettamente in grado di distinguerlo, a differenza della macchina, ed è per questo motivo che questo strumento non deve sostituire il patologo ma solamente indirizzarlo su zone di tessuto "interessanti", cioè distanti dalla normalità.

CASO N 4

Uomo, 28 aa, Melanoma a diffusione superficiale della regione scapolare, a cellule epitelioidi e fusate, fase di crescita radiale, non ulcerato, Breslow 0,3 mm, TIL assenti



In questo caso, abbiamo analizzato l'immagine di WSI in due tempi: nel primo caso l'algoritmo segnalava come aree critiche, ovvero come "atipiche", i globuli rossi presenti sopra al preparato, così come la china presente sul margine destro.

Abbiamo quindi eseguito un thresholding, ovvero impostato una soglia, che permettesse di escludere quasi completamente ciò che non fosse parte del derma. In questo modo, abbiamo ottenuto la mappa inferiore, in cui si riesce a distinguere l'area di nevo che non viene colorata e in rosso scuro le aree di atipia maggiore, corrispondenti alle aree di melanoma. Sono presenti anche dei falsi positivi ma, come detto in precedenza, non stiamo cercando uno strumento prettamente diagnostico.

Discussione

Il ruolo dell'Intelligenza Artificiale nella medicina

Negli ultimi, anni l'Intelligenza Artificiale (AI) ha interessato in modo sempre maggiore il mondo della medicina, e continuerà a farlo trasformando l'idea che abbiamo oggi della pratica medica. Non si tratta di idee nuove, ma solo recentemente la tecnologia ha raggiunto il livello di sviluppo tale che si possa applicare alla pratica clinica quotidiana.

Come visto in questa tesi, le potenzialità dell'AI nell'ambito diagnostico sono molteplici: una prima analisi dei preparati istologici con la formulazione di una scala di priorità può portare ad ottenere una diagnosi di melanoma, e quindi il successivo intervento chirurgico di allargamento, in tempi più rapidi di quelli attuali.

Tutti gli strumenti di supporto alle decisioni cliniche basate sull'AI potrebbero quindi fornire ai medici suggerimenti basati su dati concreti, ma spetterebbe sempre ai medici e ai loro pazienti valutare questi dati e decidere insieme il modo migliore di procedere. L'obiettivo, infatti, non è quello di sostituire il ruolo del medico, ma di ottimizzarne il lavoro, focalizzando il tempo e le competenze su compiti necessariamente umani, come l'interazione col paziente, la visita, la comunicazione di notizie.

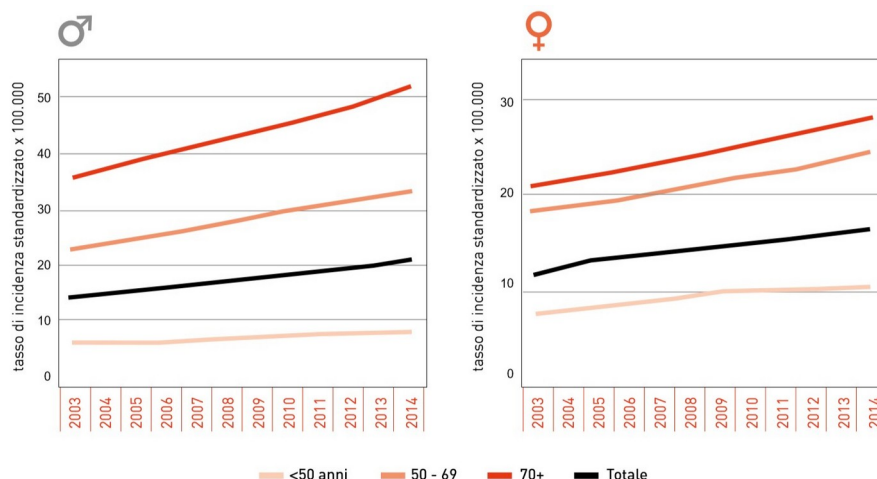
Ruolo e futuro della teleconsulenza

Come già accennato in precedenza, la digitalizzazione delle immagini dermatoscopiche e istopatologiche può portare ad ampi vantaggi nel campo delle consulenze: la condivisione di un'immagine di WSI può essere istantanea con qualsiasi laboratorio del mondo, dotato di un computer ed una connessione ad Internet. Questo può portare alla formazione di laboratori periferici (spoke) in cui si eseguono diagnosi di routine, collegati a laboratori specializzati (hub) a cui riferirsi per i casi complessi.

Il problema principale, nell'era digitale, diventa la protezione dei dati sanitari dei pazienti, in quanto definiti come "il petrolio del XXI secolo": l'addestramento di qualsiasi algoritmo di AI richiede notevoli quantità di dati; al giorno d'oggi l'AI è il campo di ricerca principale, non solo in ambito medico, ma anche in ambito commerciale. Se un'azienda entrasse in possesso dei dati sanitari dei pazienti, potrebbe utilizzarli per pubblicità mirate, per regolare le assicurazioni in paesi come gli USA, per addestrare software medico da rivendere ai sistemi sanitari. Diventa quindi necessario stabilire delle norme sulla condivisione e sulla protezione dei dati dei pazienti, ricordando che il fine ultimo è sempre la cura.

L'incremento delle diagnosi di melanoma

Come emerge dall'ultimo rapporto AIRTUM, l'incidenza del melanoma nella popolazione è in costante aumento, in parte per l'aumentata esposizione ai raggi UV ed in parte per la disponibilità di tecniche diagnostiche più accurate. Quest'ultimo dato è confermato dal fatto che la mortalità è rimasta sostanzialmente stabile, intorno all'1% delle diagnosi.¹



L'aumento delle diagnosi ha portato anche ad una maggiore attenzione da parte della popolazione per le patologie tumorali della pelle, con un incremento del numero di visite volontarie da parte dei soggetti sani e un aumento di diagnosi precoci di melanomi “sottili”.

Per il dermatologo, però, questo aumento diagnostico comporta un incremento di lavoro in termini di follow-up dei pazienti per un periodo di tempo di almeno 5 anni. Lo scopo del follow-up nel paziente con diagnosi di melanoma è l'individuazione precoce di ripresa di malattia, la diagnosi di seconde neoplasie e la prevenzione mediante l'adozione di stili di vita corretti.^{27,28}

Il carico di lavoro aumenta anche per i laboratori di Dermatopatologia, in quanto il gold standard diagnostico ad oggi è la valutazione istopatologica della biopsia cutanea ed è necessario fornire al clinico una risposta in tempi corretti (entro 1 mese). Diventa quindi auspicabile ed essenziale fornire ai laboratori degli strumenti, come il software di cui sopra, in grado di aiutare il servizio di diagnostica, ad esempio fornendo un “prescreening” tramite l'assegnazione di codici di priorità di rischio nei preparati analizzati.

Limiti dello studio

L'addestramento da noi condotto ha portato ad una rete neurale che ad oggi fatica a riconoscere i nuclei dell'epidermide, a causa del basso contrasto tra nucleo e citoplasma; pertanto le analisi sono state incentrate sul comportamento delle popolazioni cellulari del derma papillare.

Inoltre, abbiamo notato che la distribuzione dei linfociti nel derma sia responsabile della segnalazione di alcune “aree critiche”; su questo punto sarà necessario lavorare, per addestrare la macchina a distinguere i melanociti dai linfociti.

Conclusioni

Il tool oggetto di questa tesi può trovare applicazione come strumento di supporto per il dermatopatologo, poiché lo aiuta nella creazione di un ordine prioritario da seguire nell'analisi dei preparati. L'obiettivo ultimo, però, sarebbe quello di integrare questa tecnologia nella pratica clinica, in modo tale da migliorare la gestione del paziente. In futuro, infatti, sarebbe auspicabile riuscire a correlare le aree critiche attualmente riconosciute con le strutture visibili alla dermatoscopia, per creare dei modelli 3D delle lesioni, unendo le informazioni ottenute dalla dermatoscopia a quelle elaborate da questo strumento. In questo modo, il dermatopatologo potrebbe accelerare il processo diagnostico, migliorando la gestione clinico-chirurgica del paziente affetto da melanoma.

BIBLIOGRAFIA

1. Ascierto et al. Linee Guida MELANOMA. (2019).
2. Gilchrest, B. A., Eller, M. S., Geller, A. C. & Yaar, M. The pathogenesis of melanoma induced by ultraviolet radiation. *N. Engl. J. Med.* **340**, 1341–1348 (1999).
3. Elwood, J. M. & Jopson, J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int. J. Cancer* **73**, 198–203 (1997).
4. Bulliard, J. L., Cox, B. & Elwood, J. M. Latitude gradients in melanoma incidence and mortality in the non-Maori population of New Zealand. *Cancer Causes Control* **5**, 234–240 (1994).
5. Gandini, S. et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur. J. Cancer* **41**, 2040–2059 (2005).
6. Bataille, V. et al. Risk of cutaneous melanoma in relation to the numbers, types and sites of naevi: a case-control study. *Br. J. Cancer* **73**, 1605–1611 (1996).
7. Beroukhim, K., Pourang, A. & Eisen, D. B. Risk of second primary cutaneous and noncutaneous melanoma after cutaneous melanoma diagnosis: A population-based study. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2019) doi:10.1016/j.jaad.2019.10.024.
8. Gandini, S. et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur. J. Cancer* **41**, 28–44 (2005).
9. Carey, W. P. et al. Dysplastic nevi as a melanoma risk factor in patients with familial melanoma. *Cancer* **74**, 3118–3125 (1994).
10. Bruno, W. et al. Multiple primary melanomas (MPMs) and criteria for genetic assessment: MultiMEL, a multicenter study of the Italian Melanoma Intergroup. *Journal of the American Academy of Dermatology* **74**, 325–332 (2016).
11. Patel, S., Wilkinson, C. J. & Sviderskaya, E. V. Loss of both CDKN2A and CDKN2B allows for centrosome overduplication in melanoma. *J. Invest. Dermatol.* (2020) doi:10.1016/j.jid.2020.01.024.
12. Pandeya, N. et al. Factors Related to Nevus-Associated Cutaneous Melanoma: A Case-Case Study. *Journal of Investigative Dermatology* **138**, 1816–1824 (2018).
13. Guido Massi & Philip E. LeBoit. *Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma*. (Springer).
14. Cymerman, R. M. et al. De Novo vs Nevus-Associated Melanomas: Differences in Associations With Prognostic Indicators and Survival. *JNCI J Natl Cancer Inst* **108**, djw121 (2016).

15. Gershenwald, J. E. & Scolyer, R. A. Melanoma Staging: American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8th Edition and Beyond. *Ann. Surg. Oncol.* **25**, 2105–2110 (2018).
16. Wheatley, K., Wilson, J. S., Gaunt, P. & Marsden, J. R. Surgical excision margins in primary cutaneous melanoma: A meta-analysis and Bayesian probability evaluation. *Cancer Treat. Rev.* **42**, 73–81 (2016).
17. Swetter, S. M. *et al.* Guidelines of care for the management of primary cutaneous melanoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* **80**, 208–250 (2019).
18. Faries, M. B. *et al.* Completion Dissection or Observation for Sentinel-Node Metastasis in Melanoma. *N. Engl. J. Med.* **376**, 2211–2222 (2017).
19. Ascierto, P. A. *et al.* Adjuvant interferon alfa in malignant melanoma: an interdisciplinary and multinational expert review. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **85**, 149–161 (2013).
20. Gewirtzman, A. J., Saurat, J.-H. & Braun, R. P. An evaluation of dermoscopy fluids and application techniques. *Br. J. Dermatol.* **149**, 59–63 (2003).
21. Pan, Y. *et al.* Polarized and nonpolarized dermoscopy: the explanation for the observed differences. *Arch Dermatol* **144**, 828–829 (2008).
22. Argenziano, G. *et al.* Dermoscopic monitoring of melanocytic skin lesions: clinical outcome and patient compliance vary according to follow-up protocols. *Br. J. Dermatol.* **159**, 331–336 (2008).
23. Ronneberger, O., Fischer, P. & Brox, T. U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. *arXiv:1505.04597 [cs]* (2015).
24. Wang, S., Yang, D. M., Rong, R., Zhan, X. & Xiao, G. Pathology Image Analysis Using Segmentation Deep Learning Algorithms. *The American Journal of Pathology* **189**, 1686–1698 (2019).
25. He, K., Gkioxari, G., Dollár, P. & Girshick, R. Mask R-CNN. *arXiv:1703.06870 [cs]* (2018).
26. Ruiz-Santaquiteria, J., Bueno, G., Deniz, O., Vallez, N. & Cristobal, G. Semantic versus instance segmentation in microscopic algae detection. *Engineering Applications of Artificial Intelligence* **87**, 103271 (2020).
27. Crowley, N. J. & Seigler, H. F. Late recurrence of malignant melanoma. Analysis of 168 patients. *Ann. Surg.* **212**, 173–177 (1990).
28. Dal Maso, L. *et al.* Long-term survival, prevalence, and cure of cancer: a population-based estimation for 818 902 Italian patients and 26 cancer types. *Ann. Oncol.* **25**, 2251–2260 (2014).