

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE CHIRURGICHE

Ciclo XXXIV

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

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

APPLICAZIONE E CONFRONTO TRA METODICHE NON INVASIVE E
INVASIVE NELLO STUDIO DELLE MALATTIE DEGLI ANNESSI CUTANEI

Presentata da: Dott.ssa Aurora Maria Alessandrini

Coordinatore Dottorato

Prof.ssa Bianca Maria Piraccini

Supervisore

Prof.ssa Bianca Maria Piraccini

Esame finale anno 2022

INDICE

Scopo della tesi

CAPITOLO I _____ 5

Il follicolo pilifero

- 1.1 Embriologia
- 1.2 Anatomia del follicolo
- 1.3 Ciclo del pelo

CAPITOLO II _____ 15

L'unità ungueale

- 2.1 Embriologia e fisiologia
- 2.2 Anatomia
- 2.3 Vascolarizzazione
- 2.4 Innervazione

CAPITOLO III _____ 22

Tecniche diagnostiche nelle malattie degli annessi

3.1 Metodiche di studio nelle malattie dei capelli

- 3.1.1 *Esame obiettivo*
- 3.1.2 *Pull test*
- 3.1.3 *Osservazione microscopica delle radici e del fusto*
- 3.1.4 *Wash test e wash test modificato*
- 3.1.5 *Tricogramma*
- 3.1.6 *Dermoscopia (Tricoscopia)*
- 3.1.7 *Biopsia del cuoio capelluto*

3.2 Metodiche di studio nelle malattie delle unghie

- 3.2.1 *Esame clinico*
- 3.2.2 *Microscopia ottica diretta*
- 3.2.3 *Esame colturale*
- 3.2.4 *Colorazione PAS*
- 3.2.5 *Dermoscopia (Onicoscopia)*
- 3.2.6 *Altre tecniche non invasive*
- 3.2.7 *Chirurgia dell'unghia*

CAPITOLO IV _____ 38

Nuove tecniche diagnostiche non invasive nelle malattie degli annessi

4.1 Microscopia confocale

- 4.1.1 *Utilizzo della microscopia confocale nello studio delle malattie dei capelli*

4.2 Tomografia ottica computerizzata

- 4.2.1 *Utilizzo della tomografia ottica computerizzata nello studio delle malattie delle unghie*

CAPITOLO V _____ 54

Studio sperimentale

- 5.1 Materiali e metodi
- 5.2 Risultati
 - 5.2.1 *Alopecia fibrosante frontale*

5.2.2 *Alopecia areata incognita*

5.2.3 *Tinea capitis*

5.2.4 *Lichen simplex cronico*

5.2.5 *Lichen planus ungueale*

5.2.6 *Psoriasi ungueale*

5.2.7 *Tumore glomico*

5.3 Conclusioni

Legenda _____ 78

Bibliografia _____ 81

Scopo della tesi

L'applicazione della dermoscopia nello studio delle malattie gli annessi cutanee risale al 2002, quando è stata applicata per la prima volta alle unghie nel tentativo di distinguere le lesioni benigne da pigmentazione maligna senza effettuare una biopsia. La tecnica è successivamente stata applicata al cuoio capelluto, per studiare cute, vasi e capelli e consentire una diagnosi non invasiva evitando la biopsia. Oggigiorno, la dermoscopia è ampiamente utilizzata per lo studio delle malattie degli annessi cutanei (col nome di “tricoscopia” ed “onicoscopia”) e sono stati sviluppati schemi diagnostici e criteri per le diverse patologie. Nonostante la diagnosi istologica rimanga il *gold standard* per una diagnosi di certezza, nuove tecniche non invasive, la tomografia ottica computerizzata (OCT) e microscopia confocale rivestono un ruolo di grande interesse tra gli esperti, essendo meno invasive, veloci da effettuare e ripetibili nel tempo. Sono però necessari altri studi approfonditi per determinare specifici *pattern* diagnostici, specificità e sensibilità soprattutto nel campo delle malattie degli annessi.

Lo scopo dello studio è valutare l'accuratezza diagnostica delle metodiche strumentali non invasive, in particolare dermoscopia, OCT e microscopia confocale, nelle patologie degli annessi cutanei, confrontate con le metodiche invasive (biopsia ed exeresi chirurgica).

Gli obiettivi dello studio sono pertanto stabilire parametri diagnostici mediante l'uso di metodiche non invasive nelle patologie dei capelli e delle unghie; confermare mediante metodica invasiva il sospetto diagnostico ottenuto mediante metodica non invasiva; valutare l'accuratezza diagnostica delle metodiche oggetto dello studio.

Capitolo I

Il follicolo pilifero

1.1 Embriologia

I follicoli piliferi compaiono attorno al 3° mese di vita fetale a livello di alcune regioni cutanee come labbro superiore, mento e sopracciglia.

A livello del cuoio capelluto la comparsa dei follicoli è invece più tardiva, e avviene al 4° mese; in queste sedi i follicoli si sviluppano e iniziano la produzione di peli in modo sincrono: sono tutti in fase anagen fino alla 26^a-28^a settimana, quando entrano in fase catagen e successivamente in fase telogen, descrivendo un'onda che progredisce dalla regione frontale a quella parietale. A livello della zona occipitale, invece, i follicoli rimangono in fase anagen fino quasi alla nascita: cadranno solo dopo il secondo-terzo mese di vita producendo un'area di alopecia nota come “alopecia transitoria neonatale”, fenomeno reversibile che risolve spontaneamente.

I follicoli originano come germi follicolari primari, che appaiono come bottoni di cellule che penetrano obliquamente nel derma sottostante, e formano delle colonne cellulari. La porzione prossimale globosa di peli delle colonne epiteliali appare lievemente concava e contiene le cellule mesenchimali che formeranno la papilla dermica. La papilla dermica ha una funzione essenziale nello sviluppo del follicolo e nella successiva regolazione della sua attività ciclica.

Si distinguono tre tipi di peli: lanugo, presente durante la vita intrauterina, peli del vello e peli terminali nell'età adulta.

L'intero corpo del feto è coperto da un sottile strato di peli chiari e lunghi chiamati lanugo che sono sottili, morbidi, poco pigmentati e privi di midollo. Sono caratteristici del periodo prenatale, compaiono intorno alla ventisettesima settimana di gestazione e crescono in due tempi: un primo periodo di crescita è al settimo-ottavo mese di gravidanza in utero; questo mantello successivamente

è sostituito da un altro strato di lanugo più corto, a un mese dal termine della gravidanza, e un secondo, approssimativamente intorno al primo anno di vita.

Nei bambini nati prematuramente, la lanugo è evidente solo dopo il primo anno di vita.

1.2 Anatomia del follicolo

Il follicolo pilifero è costituito da due segmenti: superiore, o permanente e inferiore o dinamico, soggetto a cambiamenti che avvengono durante il ciclo follicolare.

Il segmento superiore si estende dall'ostio follicolare fino all'inserzione del muscolo erettore del pelo ed è costituito da due parti: l'infundibolo e l'istmo, area in cui si attacca il muscolo erettore del pelo e si apre il dotto della ghiandola sebacea.

Il segmento inferiore si estende dall'inserzione del muscolo erettore del pelo fino al bulbo, localizzato nell'ipoderma nei follicoli terminali in anagen e nel derma medio nei follicoli del vello.

Segmento superiore

L'infundibolo si estende dalla superficie cutanea sino al punto in cui il dotto sebaceo si inserisce nel follicolo. È rivestito da un epitelio morfologicamente simile all'epidermide. La porzione d'infundibolo che attraversa l'epidermide è conosciuta come acrotrichio ed è assimilabile alla parte intraepidermica di un dotto eccrino.

Nell'infundibolo è normalmente presente una flora microbica saprofita, abbondante soprattutto a livello del cuoio capelluto e della parte superiore del tronco. I più importanti commensali del follicolo sono lo *Staphylococcus epidermis*, il *Propionibacterium acnes*, la *Malassezia* sp. e il *Demodex folliculorum*. L'istmo è delimitato superiormente dall'inserzione del dotto sebaceo e inferiormente dall'inserzione del muscolo erettore del pelo. Rappresenta una zona di transizione molto importante durante il processo di cheratinizzazione follicolare: in corrispondenza dell'istmo la guaina epiteliale interna desquama e scompare, mentre le cellule della guaina epiteliale esterna iniziano a corneificare senza la formazione di uno strano granuloso (cheratinizzazione trichilemmale).

In questa sede il follicolo presenta una rilevatezza irregolarmente emisferica che corrisponde all'area del *bulge*, sede delle cellule staminali del follicolo.

Segmento inferiore

Il segmento inferiore, o dinamico, del follicolo si estende fino all'ipoderma nei follicoli terminali mentre è localizzato a livello del derma medio nei follicoli del vello. Questa porzione del follicolo ha caratteristiche morfologiche diverse nelle fasi del ciclo follicolare.

Nel *follicolo in anagen* si distinguono il *bulbo* e la *zona soprabulbare*. Il bulbo è un'estremità espansa a sfera, localizzata nel tessuto adiposo, che ingloba una struttura connettivale specializzata, la papilla dermica. La papilla dermica ha un ruolo fondamentale nella induzione e nella regolazione del ciclo follicolare e segue il follicolo nei suoi spostamenti durante le varie fasi del ciclo. La papilla dermica continua inferiormente con guaina fibrosa del follicolo. Nella zona soprabulbare, le cellule della matrice, dotate di intensa attività mitotica, danno origine, differenziandosi e migrando verso l'alto, a strutture diverse: le cellule della matrice più vicine all'apice della papilla dermica producono rispettivamente il midollo, la corteccia e la cuticola del pelo; le cellule più esterne danno origine ai tre strati della guaina epiteliale interna: la cuticola, lo strato di Huxley e lo strato di Henle.

Il tipo di differenziazione alla quale le cellule della matrice vanno incontro è strettamente correlato alla loro distanza dalla base della papilla dermica. Fra le cellule della matrice del follicolo in anagen sono presenti numerosi melanociti il cui pigmento viene trasferito alle cellule corticali.

Nel *follicolo in catagen* la porzione inferiore va incontro a modificazioni involutive conseguenti all'arresto dell'attività mitotica. In questa fase, che dura 1-2 settimane, il follicolo risale nel derma per raggiungere l'area di inserzione del muscolo erettore del pelo. Inizialmente la matrice viene sostituita da un sottile strato di cellule epiteliali cuboidali con evidente picnosi nucleare. L'epitelio follicolare sottostante inizia il processo apoptotico e si ispessisce insieme alla radice fibrosa che collassa completamente mentre l'epitelio colonnare si sposta verso l'alto. Questo collasso crea gli *stela*, dal greco "colonna", noti anche come "streamer".

Il *follicolo in telogen* è caratterizzato da un bulbo raggrinzito, completamente cheratinizzato, di forma clavata (“club hair”). La papilla dermica, addensata con scarso stroma, è vicino al bulge, dove induce attivazione delle cellule staminali che ricolonizzano il follicolo, iniziando una nuova fase anagen (**Fig.1**). Poiché il bulbo del follicolo in telogen è adeso saldamente al sacco epiteliale che lo circonda, il pelo rimane ancorato al follicolo per tutta la durata di questa fase, di circa 3 mesi. L'adesione del pelo al follicolo diventa gradualmente più debole man mano che il telogen progredisce, consentendo il distacco del pelo alla fine di questa fase.

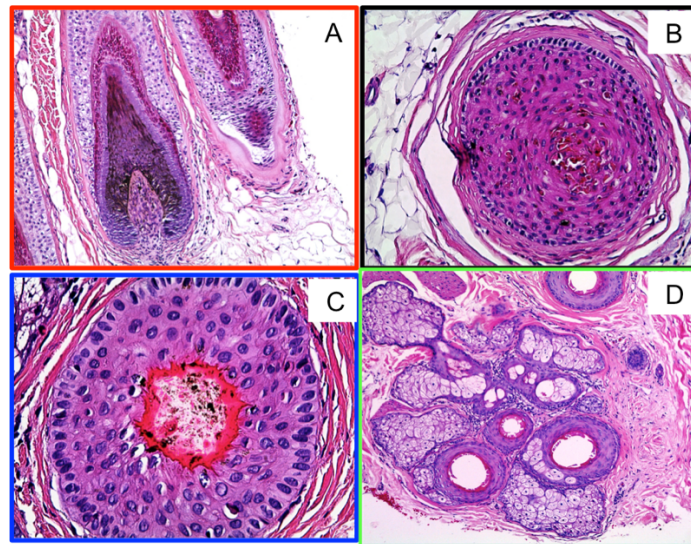


Figura 1: (A) Bulbo di un follicolo in anagen; (B) Follicolo in catagen: la presenza di molte cellule con apoptosi permette di distinguere il follicolo in catagen dal follicolo in telogen; (C) Follicolo in telogen; (D) Unità follicolare normale, 2 follicoli terminali in anagen ed un follicolo del vello con la ghiandola sebacea a livello dell'istmo

Anatomia del follicolo in anagen

Il follicolo in fase anagen è costituito, dall'esterno all'interno, da quattro strutture: la guaina connettivale, la guaina epiteliale esterna, la guaina epiteliale interna e il fusto del pelo.

La prima guaina, più esterna, circonda il follicolo e si continua inferiormente con il connettivo della papilla dermica. La guaina connettivale non segue il segmento inferiore del follicolo durante la sua ascesa in catagen ma rimane collassata nella sua posizione originale per tutto il periodo di involuzione

del follicolo. Tale persistenza della guaina è fondamentale affinché il follicolo alla ripresa del ciclo possa discendere in profondità nel derma nuovamente e raggiungere la sua posizione originale. La guaina epiteliale esterna si estende dall'ostio follicolare al bulbo, poggiando sulla membrana vitrea, che si andrà ad ispessire nella fase di catagen. La guaina esterna è a sua volta composta da tre segmenti: superiore, intermedio e inferiore.

Il primo si estende dall'ostio follicolare al dotto sebaceo; quello intermedio dal dotto sebaceo alla porzione superiore del bulbo e a livello dell'istmo follicolare si ispessisce a formare il *bulge*, nel quale, secondo molti Autori, sono contenute le cellule staminali.

Il segmento inferiore della guaina epiteliale esterna circonda il bulbo e trae origine dalla matrice del pelo; esso è composto da 1-2 strati di cellule che si differenziano e migrano verso la parte superiore del follicolo senza andare incontro a cheratinizzazione.

A livello dell'istmo, quando la guaina epiteliale interna scompare, la guaina epiteliale esterna cheratinizza (cheratinizzazione "trichilemmale"). La guaina epiteliale interna è prodotta dalla matrice del pelo e riveste il fusto fino a livello dell'istmo dove si disintegra. Tre strati la costituiscono e sono lo strato di Henle, lo strato di Huxley e la cuticola, che aderisce strettamente alla cuticola del pelo. Le prime cellule a cheratinizzare sono le cellule dello strato di Henle, seguite dalla cuticola e dalle cellule dello strato di Huxley.

Il pelo è costituito da tre strutture: cuticola, corteccia e midollo.

La cuticola rappresenta la parte più esterna ed è formata da 5-8 file di cellule appiattite con il margine libero rivolto verso l'alto, con un aspetto tipico a "tegole del tetto". È responsabile della protezione del fusto dagli agenti ambientali.

La corteccia è formata da cellule fusate, ripiene che filamenti di cheratina e fortemente adese fra loro, e conferisce al fusto resistenza ed elasticità.

Il midollo, presente solo nei peli terminali, è formato da cellule poligonali, scarsamente cheratinizzate e ricche di glicogeno.

Papilla dermica

La papilla dermica è costituita da cellule morfologicamente simili ai fibroblasti, e, durante la fase telogen, segue il follicolo nella sua migrazione nel derma. Essa ha un ruolo importante nell'attività delle cellule del follicolo.

La “Bulge activation hypothesis”

Secondo la “bulge activation hypothesis”, durante le fasi iniziali dell'anagen la papilla dermica stimola le cellule staminali del bulge ad andare incontro a divisione mitotica per dare origine ad una popolazione di cellule denominate “transient amplifying cells”, che corrispondono alle cellule della matrice del follicolo. Queste cellule hanno un rapido e limitato potere proliferativo, pertanto vanno incontro a diverse mitosi e infine si differenziano a costituire il pelo terminale e le sue guaine.

In base alle considerazioni fatte, è intuitivo come un danno che colpisca o distrugga la porzione alta del follicolo, pur senza il coinvolgimento della matrice, sarà causa di alopecia cicatriziale, mentre un danno grave alla matrice, che però non interessa l'istmo, non comporta una distruzione irreversibile del follicolo.

1.3 Ciclo del pelo

Come accennato in precedenza, prima della nascita il feto è ricoperto dalla lanugo, cioè da peli biondi e sottili che compiono attorno alla 27^a settimana di gestazione e cadono in utero un mese prima del termine della gravidanza. Saranno quindi sostituiti da un secondo mantello di peli lanugo, più corti.

Morfologicamente, dopo la nascita, si riconoscono due tipi di pelo: i peli del vello, prodotti dai follicoli del vello, e i peli terminali, prodotti dai follicoli terminali.

I primi sono sottili, corti (meno di 2 cm), non pigmentati, privi di midollo, e ricoprono tutte le regioni del corpo che appaiono apparentemente glabre.

I peli terminali sono più lunghi e spessi, pigmentati e provvisti di midollo, e, come detto, sono presenti sin dalla nascita a livello del cuoio capelluto, delle sopracciglia e delle ciglia, mentre compaiono dopo

la pubertà a livello della barba, delle ascelle, del pube e del tronco.

I peli terminali possono trasformarsi in peli vello nel corso della vita e viceversa, sia in condizioni fisiologiche che patologiche, per esempio per effetto degli ormoni androgeni. La lunghezza dei peli terminali varia a seconda delle zone corporee: 2-3 cm a livello di ciglia e sopracciglia, mentre i capelli possono raggiungere lunghezze di oltre un metro. Il colore è influenzato da fattori genetici e razziali. Anche la densità dei capelli varia nelle diverse zone: nel cuoio capelluto, ad esempio, sono presenti circa 100.000 follicoli. La densità follicolare diminuisce con l'invecchiamento.

Ciclo del pelo

I follicoli piliferi subiscono un ciclo caratterizzato da periodi di attività, durante i quali producono il pelo, e periodi di riposo. Nell'uomo l'attività di ciascun follicolo è indipendente da quella di altri follicoli vicini, per cui i diversi follicoli si trovano in fasi differenti del ciclo.

Il ciclo follicolare è composto da tre fasi (**Fig.2**)⁽¹⁻⁴⁾

1. anagen o fase di crescita
2. catagen o fase d' involuzione
3. telogen o fase di riposo.

Fase anagen

La fase anagen o fase di crescita è quella di maggior durata: a seconda delle diverse aree corporee può variare da meno di un mese ad oltre 7 anni. Com' è intuitivo, la durata del ciclo di crescita del follicolo determinerà di conseguenza la lunghezza del pelo che esso produce.

A livello del cuoio capelluto, la fase anagen si protrae per un periodo che varia da 2 a 7 anni. Con l'avanzare dell'età, tale durata si abbrevia e i capelli diventano più corti e sottili. La velocità di crescita è un altro fattore variabile, e nel cuoio capelluto è di circa 0,4 mm al giorno. Il follicolo pilifero in fase anagen è metabolicamente attivo ed è perciò maggiormente suscettibile a noxae patogene, in

misura direttamente proporzionale alla gravità del danno stesso (anagen effluvium).

Il follicolo si estende fino al tessuto sottocutaneo ed è costituito dal pelo e dalle sue guaine.

Fase catagen

La fase catagen o fase di involuzione è una fase transitoria e breve del ciclo follicolare. Essa ha una durata che varia da 7 a 21 giorni, durante i quali il follicolo va incontro a processi involutivi e arresta la sua attività mitotica. Le cellule del follicolo pilifero subiscono il processo di apoptosi, la guaina epiteliale interna scompare, il bulbo follicolare va incontro a involuzione e si distacca dalle cellule mesodermiche della papilla. La guaina esterna, inoltre, avvolge inferiormente il follicolo formando una sacca che accompagna la risalita del follicolo stesso dal tessuto sottocutaneo al derma medio. La membrana vitrea si ispessisce.

Fase telogen

La fase telogen corrisponde alla fase di riposo o quiescenza del ciclo follicolare, e ha la durata di circa 3 mesi nel cuoio capelluto. In questa fase il follicolo si trova nel derma medio, all'altezza della ghiandola sebacea. La guaina epiteliale esterna cheratinizzata forma un sacco epiteliale intorno alla radice del pelo che presenta il tipico aspetto a clava. Il pelo, ancorato alla guaina epiteliale esterna, permane nel follicolo per tutta la durata del telogen e viene eliminato solo quando il follicolo rientra in fase anagen e un nuovo pelo occupa il canale follicolare.

Un danno, come un'anemia o una malattia infettiva, induce il rapido passaggio dalla fase di attività a quella di riposo; i capelli non cadono subito, ma la loro caduta diventa evidente quando i follicoli colpiti entreranno nuovamente nella fase di attività, quindi dopo un periodo di tre mesi (telogen effluvium).

Il rapporto tra follicoli in fase anagen e follicoli in fase telogen nell'uomo è all'incirca di 90:10 e i capelli che cadono giornalmente in condizioni fisiologiche varia da 30 a 60.

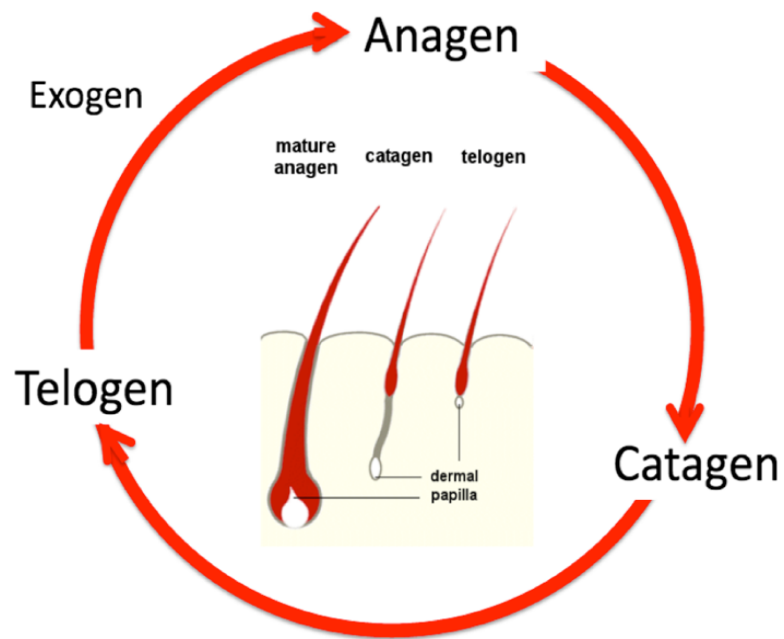


Figura 2: Ciclo del pelo

Controllo del ciclo follicolare

I fattori che regolano il ciclo follicolare sono molteplici, e agiscono su vari tipi di cellule nelle diverse fasi del ciclo. Si conoscono numerose molecole, esogene ed endogene, in grado di indurre o prolungare l'anagen, di indurre il telogen e modificare quindi l'attività del follicolo (**Tab. 1**).

Fattori	Effetto positivo	Effetto negativo
Keratinocyte growth factor (KGF)	+	
Insulin-like growth factor I (IGF-I)	+	
1,25-di-hydroxy vitamin D3 (1,25/OH/D3)	+	
Interleukin 1- alfa		+
Interleukin 6	+	
Epidermal growth factor (EGF)		+
Insulin-like growth factor I (IGF-I)		+
Sostanza P	+	
Fibroblast growth factor (bFGF)	+	
Platelet-derived growth factor (PDGF)	+	
Transforming growth factor beta (TGF-beta)		+
Transforming growth factor alfa (TGF-alfa)		+
Tumor necrosis factor alfa (TNF alfa)		+
Vascular endothelial factor (VEGF)	+	
Peptidi	+	

Tabella 1: Sostanze che agiscono sul ciclo del pelo

Capitolo II

L'unità ungueale

2.1 Embriologia e fisiologia

Lo sviluppo dell'apparato ungueale inizia alla 9° settimana della vita embrionale con la comparsa, nella regione dorsale dell'estremità distale del dito, di un'area rettangolare, il germe ungueale. La porzione prossimale del germe ungueale crescendo si accresce prossimalmente e in profondità nel derma e da origine alla matrice ungueale. Alla 15° settimana di vita embrionale la matrice è completamente sviluppata ed inizia a produrre la lamina, che verrà prodotta ininterrottamente per tutta la vita.

In condizioni normali, la velocità di crescita media di un'unghia della mano è di 3 mm/mese e quella di un'unghia del piede è di 1 mm/mese ⁽⁵⁾. La ricrescita completa di un'unghia dopo avulsione può richiedere 4-6 mesi, e fino ad 1 anno per un'unghia del piede.

La velocità di crescita delle unghie diminuisce con il passare degli anni ed è influenzata in senso positivo o negativo da diversi fattori, fra cui soprattutto malattie sistemiche e farmaci.

2.2 Anatomia

Le funzioni dell'unghia sono molteplici: oltre ad una funzione difensiva, le unghie delle mani aiutano l'attività prensile dei piccoli oggetti, quelle dei piedi la deambulazione, ed hanno un'importante funzione cosmetica.

Quella che comunemente chiamiamo unghia è in realtà la lamina ungueale, il prodotto finito, completamente cheratinizzato, della matrice ungueale. L'unità ungueale è costituita da (**Fig. 3**):

- matrice ungueale: responsabile della produzione della lamina;
- pieghe ungueali: responsabili della protezione della matrice;
- letto ungueale: responsabile dell'adesione della lamina durante la crescita dell'unghia;

- iponichio: responsabile del distacco della lamina a livello del margine distale del dito.

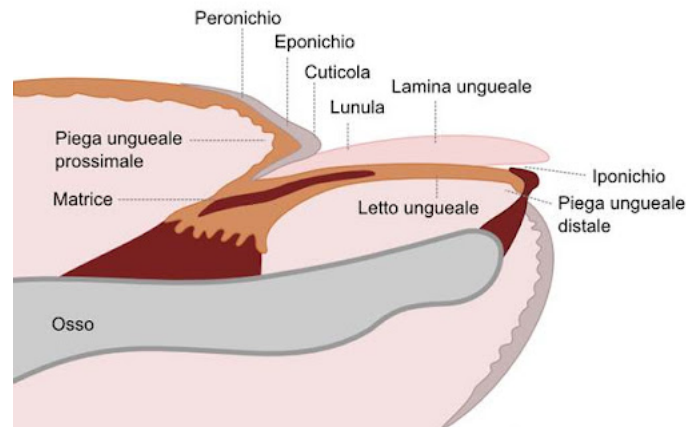


Figura 3: Anatomia dell'unità ungueale

La lamina è una struttura dura ed elastica, flessibile e resistente, che ricopre il dorso della falange distale delle dita e che è continuamente prodotta dalla matrice. Ha una forma rettangolare, a diametro maggiore longitudinale nelle mani e trasversale nei piedi. La lamina è costituita da cheratina ricca in aminoacidi solforati e particolarmente in cistina. Le cheratine dell'unghia sono per l'80- 90% cheratine dure, di tipo pilare, e per il 10-20% cheratine molli, di tipo epidermico. L'orientamento trasversale dei filamenti di cheratina fa sì che l'unghia sia più suscettibile a fratture trasversali che a fratture longitudinali. I lipidi sono ampiamente rappresentati mentre, almeno nell'adulto, sono presenti solo tracce di sali minerali quali sodio, potassio, calcio, ferro e magnesio.

La lamina è costituita da tre strati: a) parte dorsale, di spessore pari a 0,08-0,1 mm, costituito da cellule appiattite, in cui filamenti di cheratina sono orientati parallelamente e perpendicolarmente all'asse di crescita. Questa porzione dà durezza e nitidezza all'unghia, ed è prodotta dalla matrice ungueale prossimale; b) la parte intermedia, di spessore 0,3-0,5 mm, costituita da cellule larghe e irregolari, in cui i filamenti di cheratina sono perpendicolari all'asse di crescita. Questa porzione dà flessibilità ed elasticità alle unghie; c) la parte ventrale, di spessore pari a 0,06-0,08 mm, prodotta dal letto ungueale è necessaria per l'adesione della lamina al letto.

La lamina ungueale emerge dalla piega prossimale ungueale e progredisce in senso distale al di sopra del letto ungueale, a cui è strettamente aderente. La lamina è trasparente, ma appare di colore rosa

perché permette di visualizzare il colore del letto vascolarizzato. A livello distale, la lamina si distacca dai tessuti sottostanti, in corrispondenza dell'iponichio, e il margine libero ha un colorito bianco. Prossimalmente e lateralmente, la lamina è circondata dalle pieghe ungueali.

La piega ungueale prossimale consiste di due foglietti epiteliali: dorsale e ventrale. La porzione dorsale della piega ungueale è la continuazione distale della pelle del dorso del dito a cui è anatomicamente simile, ma è priva di annessi pilo sebacei. La parte ventrale aderisce inferiormente alla lamina, della quale ricopre l'1/4 prossimale (circa 0,5 cm) e si continua con la matrice ungueale. La cheratinizzazione della piega prossimale porta alla formazione della cuticola, un foglietto di tessuto corneo che, aderendo strettamente alla faccia superiore della lamina, sigilla lo spazio virtuale compreso fra la faccia ventrale della piega prossimale e la superficie dorsale della lamina. Il limite fra la porzione ventrale della piega ungueale prossimale e la matrice è riconoscibile nei preparati istologici per la scomparsa dello strato granuloso, che è assente nella matrice.

La matrice è responsabile della produzione della lamina, ed è adagiata in profondità, sotto la piega ungueale prossimale, in stretta vicinanza con la falange ossea, alla quale la sua faccia profonda aderisce. Vista frontalmente, la matrice ha una forma a ferro di cavallo, con due corni laterali e una convessità distale: è questa l'unica parte di matrice visibile dall'esterno, che appare come una semiluna bianca nella parte prossimale dell'unghia: la lunula. A livello dell'alluce i corni laterali della matrice sono posti su un piano inferiore rispetto all'asse del dito. La lunula, di colorito bianco opaco, a convessità anteriore, è evidente soprattutto a livello dei pollici; può essere assente o ricoperta dalla cuticola nelle altre dita. In sezione longitudinale, la matrice ha una forma a V, aperta distalmente e verso l'alto, e consiste in una parte prossimale e una parte distale. L'epitelio della matrice va incontro a maturazione senza la formazione di uno strato granuloso, in quanto la cheratinizzazione e la perdita dei nuclei avvengono bruscamente, in modo simile a quello che si osserva nella matrice del pelo. Ciò è necessario per la formazione di una lamina dura e resistente. La proliferazione e cheratinizzazione delle cellule della matrice dell'unghia avvengono lungo un asse obliquo, che riflette il movimento verso l'alto e distale delle cellule durante il processo di maturazione e differenziazione. Per questo

motivo, la porzione prossimale della matrice ungueale produce la parte dorsale della lamina, mentre la matrice distale, che corrisponde alla lunula, è responsabile della produzione della lamina ventrale. Oltre alle cellule epiteliali, la matrice contiene altri tipi di cellule, fra cui un discreto numero di melanociti, in misura minore rispetto a quelli della cute, e spesso in gruppi di 3-5 cellule. Nella razza caucasica, i melanociti della matrice ungueale sono normalmente quiescenti, per due ragioni: 1) la maggior parte di essi, soprattutto nella matrice prossimale, non è attivabile (melanociti DOPA-negativi) in quanto non possiede il corredo enzimatico necessario per la produzione di melanina; 2) i melanociti attivabili, (DOPA-positivi), principalmente presenti nella matrice distale, sono protetti dai raggi UV e richiedono una forte attivazione prima di iniziare la produzione di melanina. Questo spiega perché, in condizioni normali, la lamina ungueale non ha tracce di melanina. I melanociti della matrice possono però essere attivati da diversi stimoli e sintetizzare pigmento melanico, che, trasferito ai cheratinociti circostanti, porterà alla comparsa di una colorazione bruno-nera diffusa o in banda della lamina (melanonichia) ⁽⁶⁾.

Il derma della matrice prossimale è costituito da tessuto connettivo denso che forma una struttura tendinea, il legamento posteriore, che collega la matrice al periostio della parte prossimale della falange distale. La stretta connessione fra i corni laterali della matrice e il periostio è probabilmente responsabile della convessità laterale dell'unghia.

Il letto ungueale è costituito da un sottile epitelio (2-5 strati) che matura in modo irregolare, andando a costituire gli strati più profondi della lamina e consentendole una forte adesione. L'epitelio del letto è così strettamente aderente alla lamina, che si distacca dal derma e viene estratto con la lamina quando questa viene sollevata verso l'alto in modo traumatico. Il letto ha un derma riccamente vascolarizzato, con capillari orientati in file longitudinali che decorrono in creste parallele, ed è in stretta vicinanza con l'osso della falange distale, senza interposizione di tessuto adiposo. Questa vicinanza anatomica spiega perché processi patologici delle unghie spesso danno alterazioni ossee, e viceversa. Più del 90% delle unghie delle mani presenta distalmente una sottile stria trasversale, di colorito bianco, la banda onicocornea, che segna il limite distale dell'adesione della lamina al letto

ungueale. Questa regione rappresenta una naturale barriera anatomica di difesa contro agenti ambientali fisici, chimici o microbici, e al suo danneggiamento corrisponde la comparsa di onicolisi, cioè il distacco della lamina dal letto ⁽⁷⁾. La banda onicocornea è separata dal margine libero dell'unghia da una sottile stria di colore rosa, di 1-1,5 mm di lunghezza: la banda onicodermica.

L'iponichio è una sottile banda epiteliale in corrispondenza della quale la lamina perde l'adesione al letto e forma il margine libero. Distalmente, l'iponichio continua con la cute del polpastrello.

2.3 Vascolarizzazione

La vascolarizzazione arteriosa ungueale proviene principalmente dalle arterie digitali palmari e dorsali. Queste arterie si suddividono ulteriormente in rami di calibro medio che si incrociano sulla faccia dorsale dell'articolazione interfalangea distale per formare l'arcata anastomotica superficiale che irriga la matrice e la piega ungueale prossimale. I vasi penetrano poi nella zona di polpastrello adiacente alla faccia palmare dell'osso dove donano rami per l'osso e l'arcata superficiale. In seguito le arterie contornano la faccia dorsale della falange distale per penetrare, attraverso lo spazio compreso tra l'osso e il legamento laterale, nello spazio pulpale. Qui si dividono ulteriormente per formare l'arcata prossimale e l'arcata distale che vascolarizzano rispettivamente la matrice e il letto ungueale (**Fig. 4**).

La matrice è perciò vascolarizzata sia dall'arcata prossimale che da quella distale e ciò diviene di importante interesse clinico quando i vasi del polpastrello vengono danneggiati.

Il drenaggio venoso del dito è sia di tipo superficiale che profondo, ma meno abbondante rispetto alla trama arteriosa. Superficialmente il ritorno venoso è dato dalle vene digitali dorsali e palmari mentre il sistema venoso profondo corrisponde alla rete arteriosa. Entrambe le reti sono anastomizzate tra loro. Sono presenti infatti molte anastomosi artero-venose, da semplici shunt fino ai più complessi corpi glomici ⁽⁸⁾.

I capillari sanguigni dell'unità ungueale sono orientati in modo diverso nelle diverse porzioni dell'unghia: quelli della piega prossimale hanno un decorso parallelo alla superficie della cute, in

linee longitudinali. In condizioni normali, il loro numero è di circa 30x5 millimetri. Possono essere facilmente visibili con un dermatoscopio con ingrandimenti 20-40X. Alterazioni del numero e della forma dei capillari della piega ungueale prossimale sono tipiche di malattie connettivali, e possono essere studiati per la diagnosi e il follow-up ⁽⁹⁾. I capillari della matrice e dell'iponichio sono simili ai capillari cutanei, mentre i capillari del letto ungueale presentano un'anatomia unica nel suo genere, in quanto essi decorrono parallelamente alla superficie della lamina, lungo le creste longitudinali del derma del letto ungueale. Quando un capillare è danneggiato, l'emorragia si presenta come una piccola linea longitudinale nera (emorragia a scheggia).

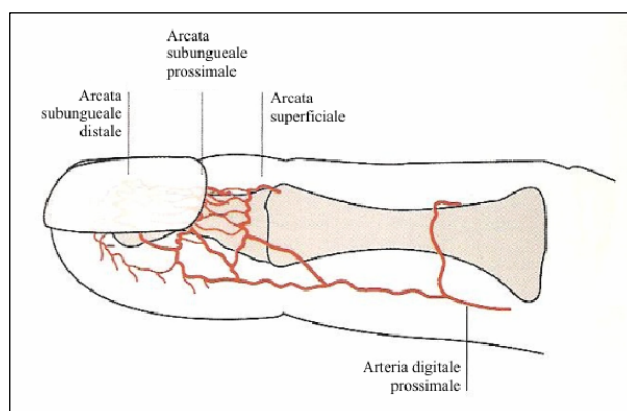


Figura 4: Vascolarizzazione arteriosa digitale

2.4 Innervazione

Nella mano il nervo mediano provvede all'innervazione della superficie palmare del I, II, III dito e la metà radiale del IV dito, mentre il nervo ulnare serve la metà ulnare del IV dito e l'intero V dito. I rami superficiali sensitivi del nervo radiale innervano tramite i nervi digitali dorsali propri del pollice, dell'indice e del medio la cute della superficie dorsale delle prime 3 dita. Si noti che da queste aree cutanee digitali devono essere escluse le due falangi distali dell'indice e del medio (di competenza del nervo mediano) ⁽¹⁰⁾.

Nel piede il nervo tibiale (ramo del nervo ischiatico) distribuisce le sue fibre sensitive alla pianta, alla cute del margine laterale del piede e alla superficie plantare delle dita (tramite il nervo plantare

mediale). Tramite i rami cutanei del nervo plantare laterale, innerva la regione laterale della pianta comprendendo il V dito e parte del IV anche sulla faccia dorsale. Il nervo peroneo superficiale dà origine ai nervi cutanei dorsali mediale e intermedio che terminano coi rami digitali che innervano la superficie dorsale di parte del IV dito, il III, il II ed il I dito. Il nervo peroneo profondo termina con i nervi digitali dorsali per il I e II dito e dà rami sensitivi solo per una piccola porzione cutanea compresa tra alluce e II dito. A livello digitale i nervi dorsali e palmari (o plantari) corrono accoppiati ai lati dei tendini flessori con il fascio vascolo-nervoso.

L'innervazione dell'apparato ungueale segue pressoché la rete vascolare: al di sopra dell'articolazione interfalangea distale il nervo digitale palmare si divide in tre branche terminali che vanno ad innervare l'intera unghia e il polpastrello ⁽⁸⁾.

Capitolo III

Tecniche diagnostiche nelle malattie degli annessi

3.1 Metodiche di studio nelle malattie dei capelli

3.1.1 Esame obiettivo

La valutazione del paziente va fatta in ambiente ben illuminato con il paziente seduto in modo da poter essere valutato a 360°. Può essere necessario valutare l'aspetto dei peli del corpo, in questo caso tutta la superficie cutanea deve essere esaminata alla ricerca di aree di alopecia/ipertricosi/irsutismo. L'esame obiettivo deve valutare l'aspetto, la densità e la distribuzione dei capelli all'attaccatura, al vertice e in tutte le altre regioni. A volte la sede dell'alopecia indica la malattia. L'attaccatura dei capelli è tipicamente bersaglio dell'alopecia androgenetica maschile (arretramento attaccatura frontotemporale) ed è la sede di localizzazione dell'alopecia fibrosante frontale. L'alopecia areata spesso interessa l'attaccatura dei capelli, soprattutto nucale, nella forma ofiasica, che ha tipicamente un decorso cronico.

Molte alopecie, cicatriziali e non, hanno come elettiva la regione del vertice (lichen plano-pilare, alopecia centrale centrifuga cicatriziale, alopecia androgenetica), mentre le patologie del fusto del pelo con aumentata fragilità sono più gravi nelle aree posteriori, sottoposte a maggiore frizione.

Ciglia e sopracciglia sono aree spesso colpite dall'alopecia areata, e un'alopecia delle sopracciglia è tipicamente associata nell'alopecia fibrosante frontale.

Anche quando l'alopecia è immediatamente visibile come una chiazza riferita dal paziente, è comunque necessario osservare tutta la rimanente parte del capo, alla ricerca di altri sintomi spesso non riconosciuti dal paziente. L'osservazione dei peli del volto e del tronco può rivelare un irsutismo o ipertricosi, o chiazza alopeciche dell'alopecia areata o di alopecie cicatriziali.

La cute può inoltre mostrare patologie dermatologiche associate a quella del cuoio capelluto, quali

ad esempio psoriasi e lupus eritematoso discoide. Spesso i pazienti con alopecia hanno segni conseguenti all'esposizione eccessiva del cuoio capelluto al sole, quali iperpigmentazioni, ustioni, o tumori cutanei come a cellule squamose.

La durata e la modalità di comparsa del problema sono altrettanto importanti: alcune malattie sono presenti dalla nascita o dall'infanzia, anche se il paziente si presenta alla visita in età adulta. L'alopecia può svilupparsi in modo rapido e lentamente progressivo, in questi casi non associandosi ad aumentata caduta dei capelli. È anche necessario chiedere informazioni riguardo a trattamenti cosmetici, medici o chirurgici effettuati dal paziente.

3.1.2 Pull test

È una tecnica non invasiva utile per la diagnosi e il follow-up di alcune malattie dei capelli e del cuoio capelluto. Si esegue impugnando fra due dita un ciuffo più o meno corposo di capelli e traendoli in senso distale, così da estrarre dal capo le radici lassamente adese (**Fig.5**). L'esame delle radici estratte e il loro numero sono indicativi di diverse patologie (**Tab. 2**).

Il pull test deve essere effettuato con regolarità in modo che l'operatore ne acquisti dimestichezza.

È necessario tenere in considerazione che il lavaggio dei capelli e le procedure cosmetiche eliminano dal capo molti capelli in telogen; per questo motivo a parità di gravità della malattia, il pull test può variare notevolmente in base alla distanza in giorni dall'ultimo lavaggio dei capelli.

Nelle alopecie cicatriziali in fase attiva, soprattutto il lichen plano-pilare, il pull test dal margine della chiazza permette di estrarre radici in anagen con spesse guaine trasparenti, che corrispondono alle guaine del follicolo ed indicano una flogosi acuta a livello della giunzione dermo-epidermica dei follicoli. Per questo motivo, una volta estratto, il follicolo non ricrescerà più, e il pull test deve per questo motivo prelevare solo due- quattro capelli.

Tipo di alopecia	Sedi	Quantità di capelli sottoposta a trazione	Tipo di radici prelevate	Diagnosi	Limiti della tecnica
Caduta diffusa dei capelli Diradamento diffuso	anteriore, vertice, occipitale, parietale destra, parietale sinistra	10-20 per area	telogen distrofici	telogen effluvium alopecia areata incognita (radici numerosissime) anagen effluvium alopecia areata diffusa	distanza dall'ultimo lavaggio/acconciature, forza di trazione
Diradamento in area androgeno-dipendenti	anteriore, vertice, occipitale, parietale destra, parietale sinistra	10-20 per area	telogen corti in aree androgeno-dipendenti telogen	alopecia androgenetica in fase progressiva alopecia androgenetica e telogen effluvium	distanza dall'ultimo lavaggio/acconciature, forza di trazione
Chiazze alopeciche	marginii della chiazza, aree apparentemente sane	2-4	anagen/ telogen con guaine spesse dalla periferia della chiazza distrofici dalla periferia della chiazza distrofici dalla periferia della chiazza e da aree apparentemente sane capelli spezzati	alopecia cicatriziale in fase attiva alopecia areata in chiazze in fase acuta alopecia areata diffusa anomalie congenite o acquisite del fusto del capello	i capelli prelevati non ricresceranno più Necessità di visualizzazione microscopica del fusto

Tabella 2: Significato del pull test positivo

3.1.3 Osservazione microscopica delle radici e del fusto

La semplice osservazione a fresco delle radici e del fusto dei capelli, con interposizione di gel da ecografia o di eukitt, con ingrandimenti di 10x, consente di distinguere il tipo di capello prelevato (telogen, distrofico, anagen con guaine spesse) o di osservare le patologie del fusto. In alcuni casi può rendersi necessario lo studio col microscopio elettronico a scansione.

3.1.4 Wash test e wash test modificato

Consiste nel fare raccogliere al paziente i capelli persi al lavaggio, la cui conta è indicativa dell'entità della caduta: nel wash test modificato si valuta anche spessore e lunghezza dei capelli in telogen: la presenza di un'alta percentuale di capelli sottili è indice di alopecia androgenetica.

3.1.5 Tricogramma

Il tricogramma è un metodo semplice e rapido per lo studio e la diagnosi delle alterazioni del ciclo follicolare e di alcune anomalie del fusto dei capelli. È un metodo semi-invasivo, che consiste nello "strappo" di 50-100 capelli e nella loro osservazione al microscopio ottico, così da distinguere le radici nelle differenti fasi del ciclo, e osservare la morfologia del fusto.

Il prelievo si esegue fissando i capelli nel loro punto di emergenza con una pinza di Klemmer, la cui estremità è ricoperta di gomma. Si procede così allo strappo che deve essere energico e deciso nella direzione di crescita dei capelli: uno strappo lento infatti può determinare una modificazione dell'aspetto delle radici.

Si procede quindi al montaggio dei capelli sul vetrino e all'osservazione al microscopio ottico con obiettivi 2.5 x e 10 x.

Ogni fase del ciclo del pelo ha un aspetto microscopico caratteristico:

- Anagen: la radice ha una forma grossolanamente rettangolare, sono ben visibili la zona cheratogena scura ed il pigmento melanico, e solitamente sono presenti le guaine epiteliali interna ed esterna.

Visibile è anche il midollo del pelo.

- Anagen displastico: il capello ha le stesse caratteristiche dell'anagen normale, ma è più sottile e spesso non presenta le guaine. È sempre presente la zona cheratogena scura. Il pelo displastico è il risultato di un'interferenza di modica entità e di breve durata sull'attività di crescita della radice pilare; si osserva spesso, anche in soggetti normali, come conseguenza di abitudini di acconciatura (spazzolamento e lavaggi frequenti) e per questo nella conta telogenica va considerato come anagen

normale.

- Anagen distrofico: è assottigliato nella porzione prossimale, con assenza della zona cheratogena scura e delle guaine. Questo tipo di alterazione è il risultato di una notevole diminuzione dell'attività mitotica delle cellule della matrice del pelo con conseguente rallentamento della produzione del capello e delle sue guaine. Sono molti i fattori esogeni ed endogeni che, interagendo con le cellule da cui origina il pelo, ne possono alterare la funzione: le cause più comuni sono agenti chimici e fisici e, fra i fattori endogeni, gli agenti citostatici o le malattie infiammatorie. L'intensità dell'insulto può essere valutata osservando la parte assottigliata della radice: un assottigliamento graduale è indice di un insulto modesto, mentre il brusco assottigliamento sta per un danno più intenso.

- Catagen: nel tricogramma normale i capelli in catagen sono di raro riscontro, e spesso di difficile identificazione. I capelli in catagen iniziale assomigliano ad un anagen displastico, mentre quelli in catagen II o III sono simili alle radici telogen, ma conservano visibile la zona cheratogena e le guaine.

- Telogen: è il cosiddetto "club hair", per la forma a clava della sua estremità prossimale, manca della zona cheratogena e delle guaine. Nel telogen iniziale la radice è circondata da un sacco epiteliale, che scompare in fase più avanzata.

Una volta identificate e contate le varie radici, si calcola la loro percentuale.

Nel tricogramma di un soggetto normale il rapporto fra anagen e telogen è circa 9:1/9:2 (in condizioni normali le radici in catagen non sono presenti)

I tricogrammi patologici presentano variazioni di questa percentuale, con eventualmente associata la presenza di radici distrofiche (**Fig. 5**).

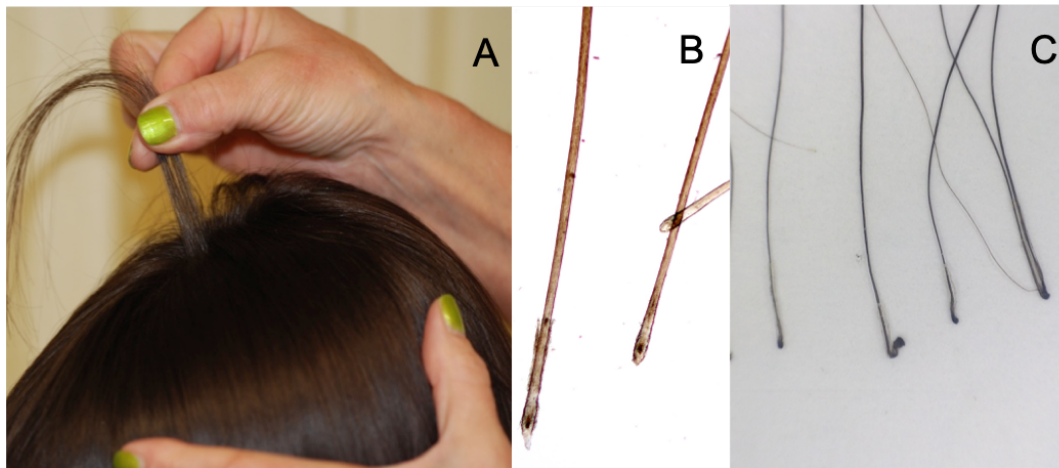


Figura 5: Corretta esecuzione di un pull test (A): leggera trazione di un ciuffo di capelli in direzione della loro emergenza dal cuoio capelluto. Il tricogramma in (B) evidenzia radici in telogen, in (C) radici in anagen con guaine

3.1.6 Dermoscopia (Tricoscopia)

La tricoscopia è una tecnica non invasiva utile per la diagnosi ed il follow-up delle malattie dei capelli e del cuoio capelluto. Può essere effettuata con strumenti polarizzati e non polarizzati, senza (dermoscopia a secco) o con l'utilizzo di una soluzione di interfaccia quale alcool o acqua.

I pattern tricoscopici delle diverse patologie del capello sono molteplici. Grazie ad essi, è possibile distinguere alopecie cicatriziali da non cicatriziali, osservando la presenza o assenza degli osti follicolari e di aree eritematose e biancastre. Le diverse alopecie cicatriziali, tra le quali lupus eritematoso discoide, lichen plano-pilare e alopecia fibrosante frontale, presentano alla tricoscopia caratteristiche simili, e per questo è necessaria sempre la conferma istologica tramite biopsia cutanea. Solo nel caso di una follicolite decalvante, la tricoscopia è diagnostica e non necessita di ulteriori approfondimenti. Tale patologia è tipicamente caratterizzata da follicoliti a ciuffo, pustole, croste e assenza di osti follicolari ⁽¹¹⁾ (**Fig.6**).

Mediante la tricoscopia, inoltre, molte diagnosi differenziali possono essere effettuate, tra cui ad esempio quella tra dermatite seborroica e psoriasi, grazie allo studio dei capillari del cuoio capelluto ⁽¹²⁾. La diagnosi di alopecia androgenetica e alopecia areata in chiazze è prettamente tricoscopica ⁽¹³⁻¹⁴⁾. Alcune malattie dei capelli, non cicatriziali, come ad esempio l'alopecia areata incognita,

richiedono invece una biopsia per la conferma istologica ⁽¹⁵⁾.

La tricoscopia permette di esaminare rapidamente tutti i capelli, le sopracciglia e le ciglia alla ricerca di alterazioni del fusto che a volte possono essere limitate a pochi peli.

Ad esempio, i peli colpiti da moniletrix sono caratterizzati dalla presenza di aree regolari di assottigliamento del fusto nelle quali è assente il midollo. Molti capelli appaiono spezzati a livello dell'assottigliamento. Nella tricoressi invaginata il pelo ha tipico aspetto a bamboo, con presenza di nodi ⁽¹⁶⁾ (**Fig.7**).

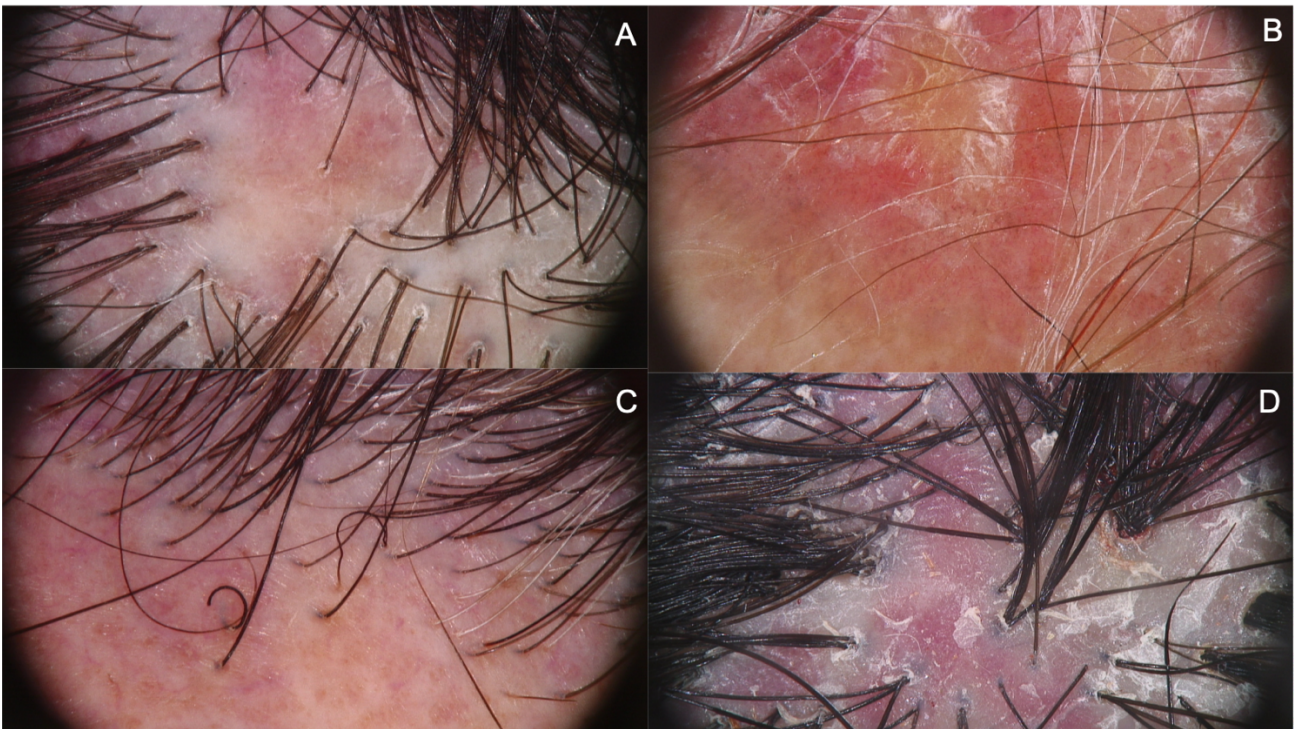


Figura 6: Tricoscopia di alcune malattie cicatriziali del cuoio capelluto: (A) lichen plano pilare; (B)lupus eritematoso discoide; (C) alopecia fibrosante frontale; (D) follicolite decalvante

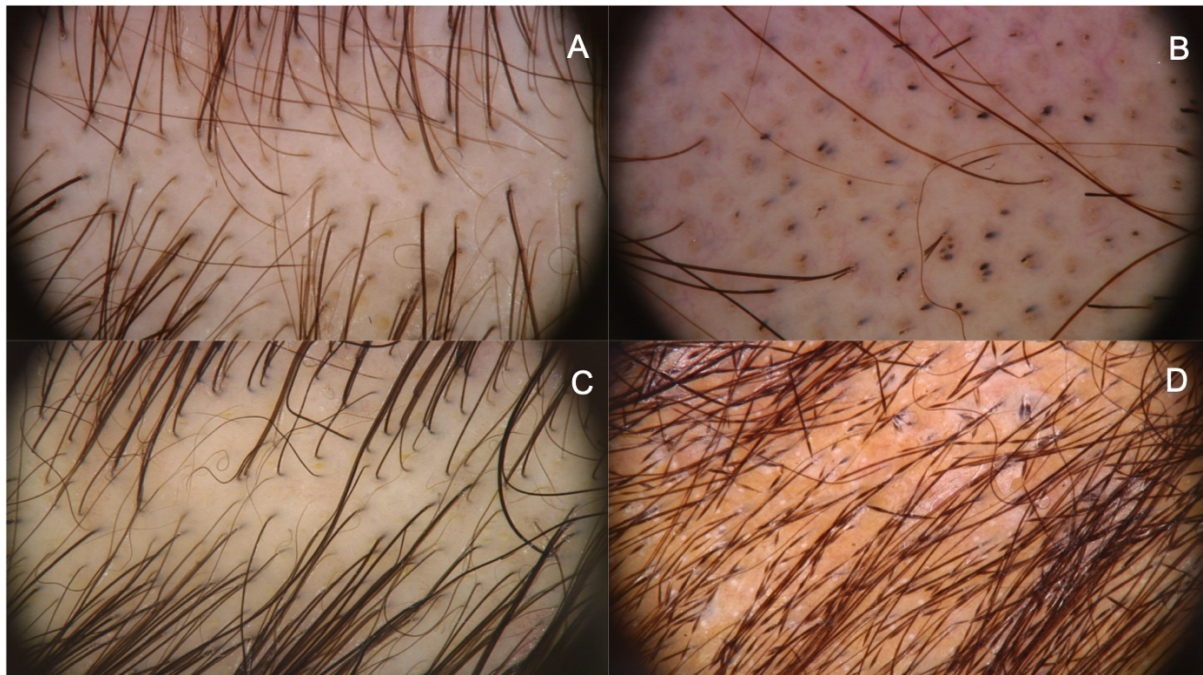


Figura 7: Tricoscopia di alcune malattie non cicatriziali del cuoio capelluto: (A) alopecia androgenetica; (B) alopecia areata; (C) alopecia areata incognita; (D) moniletrix

3.1.7 Biopsia del cuoio capelluto

Per le biopsie del cuoio capelluto è necessario utilizzare punch da 4 o 5 mm. È importante che l'esecuzione del prelievo avvenga inserendo il punch in direzione obliqua e parallela alla direzione di crescita dei follicoli.

Nelle alopecie cicatriziali il prelievo biotico non deve essere eseguito in corrispondenza dell'area già cicatriziale, ma bensì dove la malattia è clinicamente attiva, generalmente alla periferia di un'area cicatriziale.

Nelle alopecie non cicatriziali, il prelievo deve essere eseguito in corrispondenza di segni dermoscopici di attività di malattia, per questo la scelta dell'area da biopsiare può essere guidata dalla tricoscopia (*guided scalp biopsy*) (**Fig. 8**).

Per uno studio accurato delle malattie del cuoio capelluto è necessario associare allo studio di sezioni longitudinali, che permettono di individuare immediatamente sia la localizzazione che la diffusione

dell'infiltrato infiammatorio, anche lo studio di sezioni trasversali, che permettono una valutazione accurata di alcuni parametri difficilmente studiabili con le sezioni longitudinali, quali la densità follicolare, il rapporto anagen/ telogen, il diametro e la forma dei fusti, e le percentuali di follicoli del vello e terminali. Le sezioni trasversali permettono inoltre l'osservazione del 100% dei follicoli contenuti nel prelievo, e rendono così possibile lo studio di malattie che interessano solo un numero ristretto di follicoli ⁽⁵⁾.

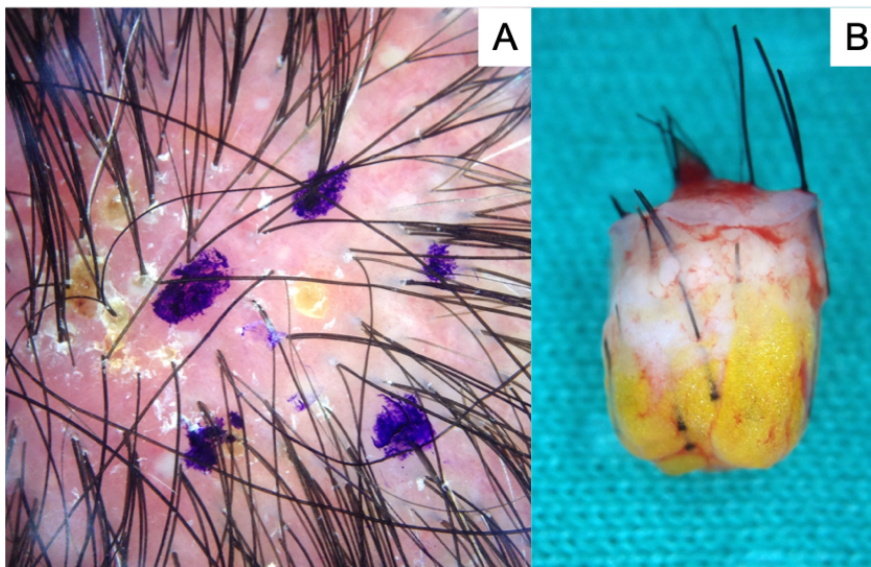


Figura 8: Esempio di “guided scalp biopsy”: la tricoscopia ha permesso di selezionare un’area specifica del cuoio capelluto (A). Esempio di punch biopsy (B)

3.2 Metodiche di studio nelle malattie delle unghie

3.2.1 Esame clinico

L'esame clinico può essere associato a esami strumentali non invasivi ed invasivi, che aggiungono dati importanti per la diagnosi, e sono spesso di facile esecuzione. Nel caso di malattie croniche delle unghie, che necessitano di visite ripetute del tempo, è sempre bene effettuare una fotografia delle unghie affette, così da poterne meglio controllare l'evoluzione. Le fotografie dovrebbero essere fatte in modo standardizzato e ripetibile: sono in genere sufficienti una foto delle 10 dita unite coi palmi-piante verso il basso, ed una della/e singola/e unghia/e affetta/e.

3.2.2 Microscopia ottica diretta

La ricerca microscopica dell'infezione fungina è più semplice di quanto si possa immaginare e richiede la presenza di pochi strumenti: un flacone d'idrossido di potassio (KOH al 40%), un microscopio ed un vetrino. Si pone su un vetrino una goccia di KOH al 40%, si immergono le squame, precedentemente frammentate con un bisturi, e si copre con un vetrino coprioggetti. Il KOH macera le squame ungueali in circa 20 minuti; se si vuole accelerare il processo, si può utilizzare un accendino per riscaldare per circa 2-3 minuti il preparato. Avvenuta questa reazione, non rimane altro che premere col pollice il vetrino copri-oggetti verso il basso e ottenere in questo modo un solo strato di cellule, che verranno osservate al microscopio con ingrandimento 20X e diaframma (cioè la luce) chiuso. I filamenti fungini appaiono rifrangenti e più scuri del campo sottostante.

3.2.3 Esame colturale

Quando si sospetta una onicomicosi, è necessario effettuare l'esame micologico per verificare la presenza di miceti nell'unghia e identificarne il tipo (**Fig.9**). L'esame micologico è indispensabile per impostare il corretto trattamento, poiché ogni diversa specie di fungo risponde in modo diverso agli antifungini topici e sistemici. L'attendibilità dell'esame microscopico e dell'esame colturale è

strettamente correlata alle modalità del prelievo. La sede del prelievo deve essere differente a seconda del tipo clinico di onicomicosi. Nei pazienti con alterazioni sia delle unghie delle mani che di quelle dei piedi bisogna effettuare due prelievi separati. Il prelievo deve essere effettuato nella zona in cui i filamenti miceliali sono attivi, cercando di asportare quanto più materiale possibile poiché un prelievo scarso può essere facilmente causa di risultati falsi negativi. La lamina asportata non deve essere usata per la micologia, perché spesso invasa da contaminanti. Nell'onicomicosi bianca superficiale, le ife fungine sono situate negli strati più superficiali della lamina e il prelievo si esegue grattando le chiazze bianche sulla superficie della lamina. Nel caso di una forma subungueale si procederà prima con la rimozione della lamina, arrivando al limite con i tessuti sani, e poi, con l'ausilio di una curette, si preleverà la parte di corneo del letto ungueale che confina con l'unghia sana, dove vi è la massima concentrazione di ife fungine. Nel caso di un'onicomicosi prossimale il prelievo si effettuerà a livello della lamina prossimale, nella sua porzione più ventrale, ed è dunque più complesso: viene di solito eseguita una biopsia in anestesia locale.

Mentre per i lieviti sono sufficienti 48 ore per l'identificazione, sono invece necessarie almeno quattro settimane per la crescita di colonie di dermatofiti e muffe. I risultati dell'esame sono a volte complessi da interpretare: l'isolamento di una muffa o di un lievito dall'unghia, infatti, non sempre indica un'onicomicosi, come per esempio accade nei casi di riscontro di *Candida*, che è spesso un secondo colonizzatore. Le muffe delle specie *Aspergillus* e *Penicillium* sono raramente causa di onicomicosi e il loro isolamento può essere indice di contaminazione del prelievo. Bisogna sempre associare il risultato della coltura con le caratteristiche cliniche dell'onicopatia.

Le piastre utilizzate per l'esame colturale sono composte da agar e antibiotici, cloramfenicolo e cicloexadine, inibitori della crescita di saprofiti.

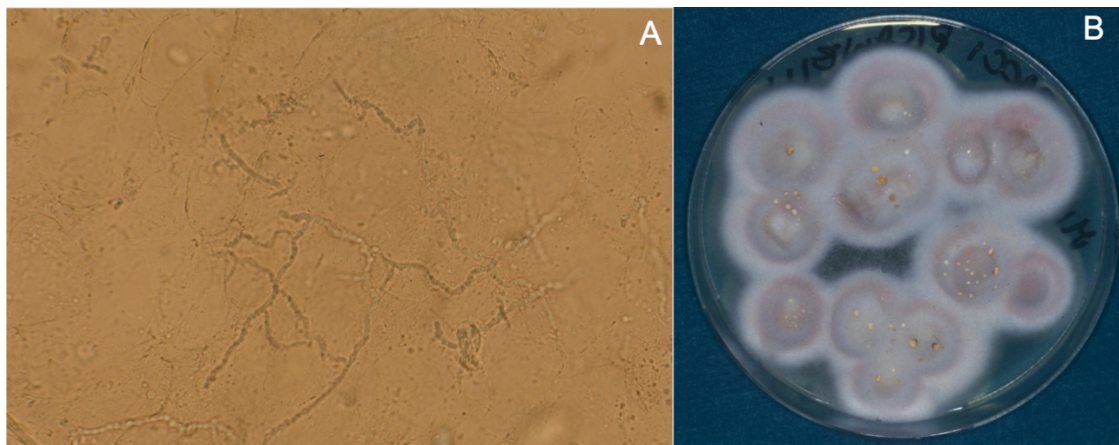


Figura 9: Esempio di esame microscopico diretto (KOH) (A) e di esame culturale (B)

3.2.4 Colorazione PAS

Nei casi dubbi di onicomicosi, può essere effettuato un esame istopatologico con reazione acido-periodico reattivo di Schiff (PAS) dei residui di unghie e di detriti subungueali. Con questa particolare colorazione istochimica, è possibile evidenziare in rosso magenta tutti i componenti tissutali contraddistinti da gruppi glicolici o amminoidrossilici adiacenti. Durante quest'ossidazione avviene anche la rottura del legame tra gli atomi di carbonio in posizione 1,2 con conseguente formazione di gruppi aldeidici strettamente contigui.

Il reattivo di Schiff, composto da fucsina basica solforata e da acido bis-N-aminosolfonico, reagisce con due gruppi aldeidici strettamente contigui, formando la leucobase di Schiff.

Quest'ultima mostra un rosso magenta intenso, a differenza del reattivo di Schiff che è incolore. La colorazione PAS ha mostrato una sensibilità del 100% in alcuni studi ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾.

3.2.5 Dermoscopia (Onicoscopia)

Inizialmente utilizzata per lo studio della pigmentazione delle unghie, la dermoscopia è oggi di grande utilità per lo studio di moltissime patologie ungueali ⁽²⁰⁾.

La dermoscopia della piega ungueale, della lamina e dell'iponichio è di facile esecuzione anche con un dermatoscopio portatile e permette un'osservazione a maggior ingrandimento e la visualizzazione dei capillari ematici. Il videodermatoscopio permette maggiori ingrandimenti, aggiungendo alla dermoscopia la possibilità di creare un database digitale di facile consultazione. Per visualizzare l'unghia è bene usare un gel da ecografia come interfaccia, per limitare le difficoltà di adesione della lente alla lamina convessa. Le alterazioni di superficie della lamina sono invece meglio osservabili a secco, così da poter bene distinguere il colore bianco delle squame o delle lamelle.

Uno studio condotto da Piraccini et al. ⁽²¹⁾ ha utilizzato questo strumento per la diagnosi differenziale tra onicomicosi e onicolisi traumatica, patologie che, condividendo segni quali onicolisi e ipercheratosi subungueale, possono indurre in errore il dermatologo (**Fig.10**).

Malattie infiammatorie, come lichen planus e psoriasi ungueale, presentano delle caratteristiche tipiche all'onicoscopia che aiutano nella diagnosi ⁽²²⁾. Ad esempio, la dermoscopia dell'iponichio ad alto ingrandimento è ampiamente utilizzata per confermare la diagnosi di psoriasi delle unghie, ed evidenzia capillari tipici irregolarmente distribuiti, dilatati, tortuosi, a forma glomerulare ⁽²³⁾. La densità capillare è positivamente correlata alla gravità della malattia e alla risposta al trattamento.

Molti tumori ungueali hanno caratteristiche specifiche all'onicoscopia, anche se il gold standard per la diagnosi resta l'esame istologico, specie nel sospetto di neoformazione maligna.

Infine, grazie all'onicoscopia, è possibile distinguere tra pigmentazione non melanica, come quella causata da un ematoma subungueale, e pigmentazione melanica ⁽²⁴⁾. Nel sospetto di un melanoma dell'unghia, nonostante siano state identificati peculiari caratteristiche onicoscopiche è raccomandato sempre eseguire una biopsia per conferma istologica ⁽²⁵⁾.

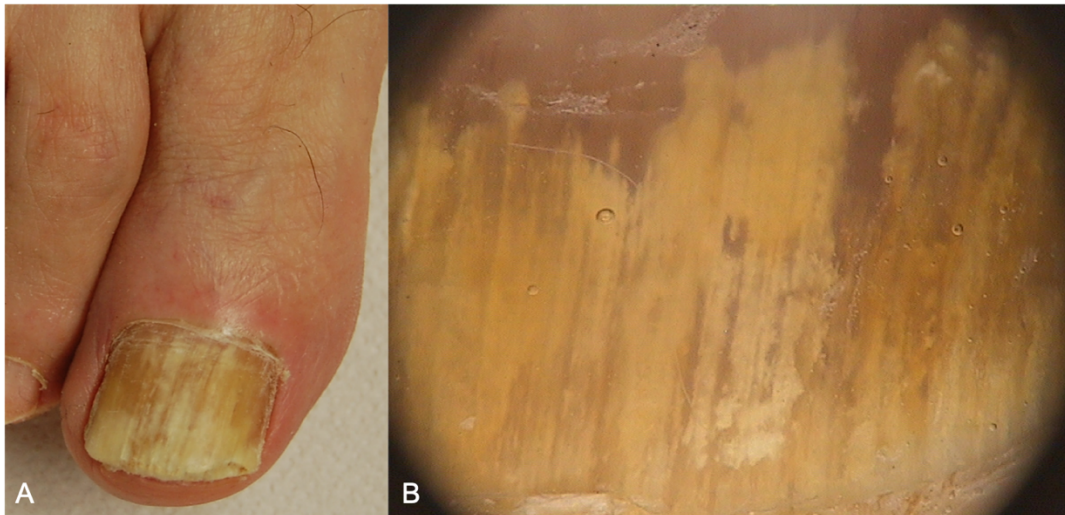


Figura 10: Immagine clinica (A) e dermoscopica (B) di una onicomicosi subungueale distale con bordo frastagliato ed evidenti "spikes"

3.2.6 Altre tecniche non invasive

L'ecografia ad alta frequenza (HFUS) permette la visualizzazione in tempo reale dell'apparato ungueale. È un metodo con un ottimo rapporto costo-beneficio che trova la sua principale applicazione nello studio lesioni neoplastiche e simil-tumorali, e rileva lesioni fino a 0.9 mm di diametro ⁽²⁶⁾. Lo studio della lesione con l'ecografia è in grado di definirne i confini anatomici, la natura solida, cistica o mista, e di valutarne la vascolarizzazione con la metodica Color Doppler.

Recentemente, l'uso dell'ecografia è stato proposto per la differenziazione tra tumore squamocellulare ungueale e granuloma piogenico, e per lo studio delle cisti mucose digitali ⁽²⁷⁻²⁸⁾.

L'esame radiologico tramite RX è fondamentale nella diagnosi di esostosi subungueale, tumore benigno dovuto ad un'escrescenza del normale tessuto osseo della corticale della falange distale che causa un nodulo subungueale duro con onicolisi e a volte ulcerazione ⁽²⁹⁾ (**Fig.11**), e nello studio del carcinoma squamocellulare, gravato nel 20% dei casi da un coinvolgimento dell'osso ⁽³⁰⁾.

La risonanza magnetica nucleare (RMN) consente la delimitazione precisa di un tumore ungueale prima dell'intervento chirurgico, ed è l'esame non invasivo raccomandato nel sospetto di tumore glomico ⁽³¹⁾.

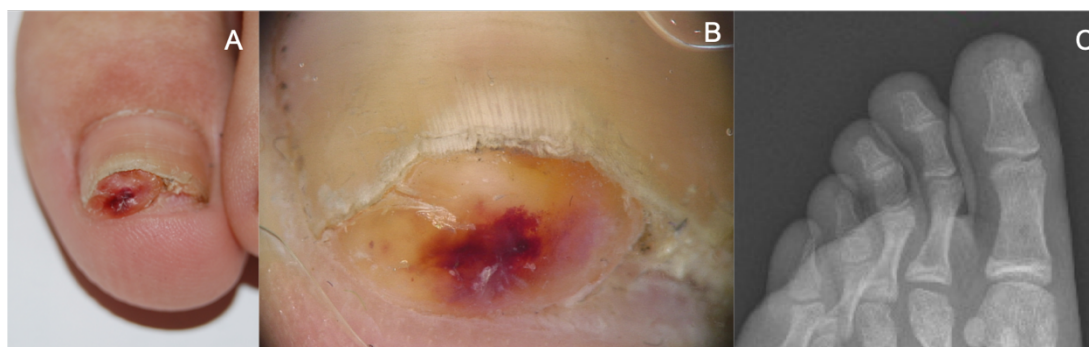


Figura 11: Esostosi subungueale: immagine clinica (A), dermoscopia (B) e radiologica (C)

3.2.7 Chirurgia dell'unghia

Un requisito fondamentale per operare l'unità ungueale è una profonda conoscenza delle tecniche di anestesia, dell'anatomia dell'unghia e delle procedure chirurgiche. È altresì fondamentale che l'esame istologico sia valutato da un dermatopatologo esperto di unghie⁽³²⁾.

La biopsia ungueale si esegue in anestesia locale, utilizzando mepivacaina o lidocaina senza adrenalina. È importante l'uso del laccio emostatico per una maggiore visualizzazione del campo operatorio garantita dall'emostasi.

La biopsia si esegue con uno strumento chiamato "punch" di diametro di 4 mm, o con un bisturi con lama 15 che permette un prelievo di maggiore entità. Se la neoformazione nasce dal letto ungueale generalmente si effettua il prelievo in tale sede. Nel caso di presenza di banda di melanonichia striata, il prelievo verrà effettuato a livello della matrice ungueale.

Nel caso in cui la banda risulti di un diametro > di 3 mm, si effettua una biopsia longitudinale o tangenziale⁽³³⁾, che consente un prelievo più ampio. Per le neoformazioni di maggiore dimensione, l'approccio chirurgico risulta più invasivo, necessita di sutura e prescrizione di antibiotico sistemico, allo scopo di prevenire sovrainfezioni,

Una tecnica particolare di grande utilizzo a livello ungueale è la chirurgia microscopicamente avanzata (Mohs), in cui si rimuove la lesione con diversi preparati fino a quando il margine tumorale

non risulta libero, ottenendo un'exeresi completa con minimo danno cicatriziale, preservando anche la qualità della vita del paziente ⁽³⁴⁾.

Nei casi di tumore maligno invasivo, è necessaria l'asportazione dell'intera unità ungueale, compresa la matrice e, se l'esame radiologico evidenzia coinvolgimento osseo, si procede all'amputazione della falange distale con chiusura per prima intenzione, con esito estetico e funzionale peggiore ⁽³⁴⁾.

Un approccio conservativo è gravato da una più alta percentuale di recidive ⁽³⁵⁾.

Capitolo IV

Nuove tecniche diagnostiche non invasive nelle malattie degli annessi

4.1 Microscopia confocale

La microscopia confocale (Reflectance Confocal Microscopy, RCM) è una tecnologia che garantisce l'osservazione di campioni biologici vitali o fissati, producendo immagini tessutali in vivo ad altissima risoluzione, quasi come una biopsia cutanea (**Fig.12**).

Questo strumento utilizza una sorgente luminosa a bassa potenza (un laser a diodi con una lunghezza d'onda di 830 nm, vicino all'infrarosso, e un'energia minore di 22mW) che scansiona i tessuti orizzontalmente producendo dettagliate immagini in bianco e nero, dall'epidermide al derma papillare superiore con uno spessore che arriva fino a 200-300 μm ⁽³⁶⁾.

Il contrasto delle immagini RCM è dovuto prevalentemente alla differenza nella riflettanza dei componenti tissutali e permette un'analisi della morfologia delle cellule.

Negli ultimi anni, le lesioni melanocitarie sono state studiate con tale metodica, permettendo di correlare in vivo i parametri dermoscopici con i loro aspetti citoarchitetturali ⁽³⁷⁻³⁹⁾.

Inoltre, sono stati pubblicati diversi studi sul suo utilizzo in alcune malattie infiammatorie ⁽⁴⁰⁾ e tumori cutanei ⁽⁴¹⁾.

Gli aspetti caratteristici del confocale sono generalmente analizzati a tre 3 diversi livelli della struttura cutanea: strato epidermico superficiale, giunzione dermo-epidermica e derma superficiale.

Rispetto ad un tradizionale microscopio a fluorescenza offre diversi vantaggi, quali il controllo della profondità del campo, il notevole miglioramento nella qualità dell'immagine e la possibilità di eseguire sezioni ottiche seriali.



Figura 12: Microscopio confocale

4.1.1 Utilizzo della microscopia confocale nello studio delle malattie dei capelli

Negli ultimi anni, sono stati pubblicati diversi studi scientifici che hanno proposto l'utilizzo della microscopia confocale nell'ambito delle malattie dei capelli ⁽⁴²⁾.

Malattie cicatriziali

Uno studio ⁽⁴³⁾ ha valutato le diverse caratteristiche RCM del lichen plano pilare (LPP). Tale malattia è classificata come malattia cicatriziale del cuoio capelluto e si caratterizza per il sintomo del prurito, il pull test positivo in fase acuta con radici in anagen con guaine e la comparsa di aree prive di osti follicolari, con ipercheratosi follicolare ed eritema ben visibili alla tricoscopia ⁽⁴⁴⁾. Necessita di conferma istologica, che evidenzia la perdita degli osti follicolari e la sostituzione delle strutture follicolari mediante tessuto fibroso con conseguente alopecia permanente.

Nello studio sopra menzionato, prima dell'esame istologico, è stato eseguito l'esame RCM utilizzando un dispositivo portatile (Viva- Scope 3000; lucido, Rochester, NY, USA) con evidenza di infiltrazione delle cellule infiammatorie che coinvolgeva l'epidermide, le strutture annessiali e il derma superiore, associato ad ispessimento delle fibre dermiche.

Durante il follow-up terapeutico, è stato rilevato il peggioramento del processo infiammatorio, con successivo cambio di terapia e miglioramento clinico, evidenziato anche dall'RCM, che ha rivelato

significativa riduzione dell'infiltrazione di cellule infiammatorie nell'epidermide e nel derma superiore.

Recentemente, le caratteristiche RCM del LPP sono state confrontate con quelle presenti in un'altra malattia cicatriziale, l'alopecia fibrosante frontale (FFA) ⁽⁴⁵⁾.

Questa malattia, tipica delle donne in post- menopausa, ma possibile anche nel maschio ⁽⁴⁶⁾ è caratterizzata da una progressiva recessione dell'attaccatura fronto-temporale e, nel 50-75% dei casi, dalla perdita parziale o completa delle sopracciglia. La progressione della malattia è generalmente lenta e la sua risposta al trattamento è scarsa. Sono anche rilevati papule del viso non infiammatori ⁽⁴⁷⁾ e sintomi come il prurito del cuoio capelluto e la tricodinia sono tipici. Il pull test è positivo con radici in anagen con guaine, mentre la tricoscopia evidenzia follicoli vuoti / punti gialli, assenza di osti follicolari e di peli vello/intermedi, lieve ipercheratosi follicolare, eritema perifollicolare e presenza di "capelli solitari" ⁽⁴⁸⁾.

L'esame istologico rivela l'infiltrazione linfocitica infiammatoria a livello di istmo e infundibulum dei follicoli piliferi intermedi e terminali, con aspetto lichenoidale e fibrosi perifollicolare e lamellare con perdita di ghiandole sebacee.

Lo studio condotto da Kurzeja et al ⁽⁴⁵⁾ ha evidenziato la presenza di infiltrato infiammatorio nell'epidermide, cellule infiammatorie perifollicolari, incontinenza pigmentaria all'interno dell'epidermide, vasi sanguigni dilatati intorno al follicolo pilifero, fibrosi perifollicolare e cicatrici a forma di banda a livello del derma superficiale.

Nello stesso studio sono state valutate anche le caratteristiche RCM del LPP con riscontro di ipercheratosi infundibolare visibile come materiale biancastro che riempie l'infundibolo del follicolo pilifero e circonda il fusto del capello, esocitosi delle cellule infiammatorie, cellule rotonde-ovoidi nell'epidermide, incontinenza pigmentaria evidente come inclusioni bianche, di forma varia tra le cellule dell'epidermide, vasi sanguigni dilatati intorno al follicolo pilifero, fibrosi perifollicolare visibile come fasci di collagene bianco attorno al follicolo pilifero, cicatrice a forma di banda nel

derma che appare come un aumento del numero di fibre dermiche bianche, mal definite e grossolane a livello del derma superficiale.

Gli Autori concludono affermando che la principale limitazione della RCM è la profondità di imaging, che è limitata alla parte superiore del derma. Ciò è associato alla penetrazione poco profonda del raggio laser RCM, che varia da 200 a 300 μm : derma reticolare e bulbo follicolare non possono essere visualizzati. Tuttavia, le principali caratteristiche istopatologiche del lichen plano pilare e dell'alopecia fibrosante frontale si trovano nell'epidermide e nel derma papillare, pertanto ulteriori studi saranno utili per determinarne le caratteristiche RCM principali.

Un'altra malattia cicatriziale che è stata recentemente studiata con la RCM è il lupus eritematoso discoide (LED) ⁽⁴⁹⁾.

Il LED può verificarsi a qualsiasi età, ma più spesso si verifica in persone di età compresa tra 20 e 40 anni ⁽⁵⁰⁾. Il cuoio capelluto presenta una o più aree eritematose di colore rosso vivido con atrofia della pelle, perdita degli osti follicolari e squame aderenti. Le caratteristiche tricoscopiche dipendono dalla fase delle lesioni: le lesioni attive includono punti giallo-marrone e punti rossi (red dots), mentre le lesioni non attive di lunga data mostrano assenza di osti follicolari, aree bianche e marrone strutturate, e vasi arborizzanti spessi ⁽⁴⁴⁾.

La diagnosi deve essere confermata con esame istologico per microscopio ottico e immunofluorescenza diretta (IFD). Le caratteristiche istopatologiche del LED sono caratterizzate da: una dermatite dell'interfaccia con vacuolizzazione basale, cheratinociti apoptotici, corpi citoidi e incontinenza del pigmento; atrofia epidermica; orto-ipercheratosi con aree di paracheratosi e plugging follicolare; infiltrato infiammatorio composto prevalentemente dei linfociti con cellule plasmatiche e distribuite attorno alla vascolarizzazione dermica superficiale e più profonda ⁽⁵¹⁾. L'IFD se positiva mostra immunoglobulina G, immunoglobulina M e reattività C3 alla membrana basale in un modello granulare continuo.

Ardigò et al ⁽⁴⁹⁾ hanno valutato questa malattia alla microscopia confocale evidenziando disordine epidermico e cellule infiammatorie luminose.

Più recentemente Melo et al ⁽⁵²⁾ hanno rivalutato tali caratteristiche con riscontro a livello dello strato spinoso di disordine epidermico con perdita del pattern a nido d'ape ed esocitosi delle cellule infiammatorie, follicoli dilatati con ipercheratosi infundibolare, rappresentato da materiale altamente rifrangente all'interno del follicolo; a livello del derma papillare: infiltrato infiammatorio perifollicolare rappresentato da vasi dilatati e cellule infiammatorie attorno e all'interno del follicolo; a livello del derma papillare: infiltrato di cellule infiammatorie e vasi dilatati intorno all'infundibolo dilatato con ipercheratosi follicolare attraverso fasci di collagene degenerati; a livello della giunzione dermo-epidermica: cellule infiammatorie che oscurano la giunzione dermo-epidermica.

Secondo gli Autori, la RCM può rappresentare uno strumento molto promettente per la diagnosi di LED.

Nella **Fig. 13** sono rappresentate le tre malattie sopramenzionate, con immagini cliniche e tricoscopiche.

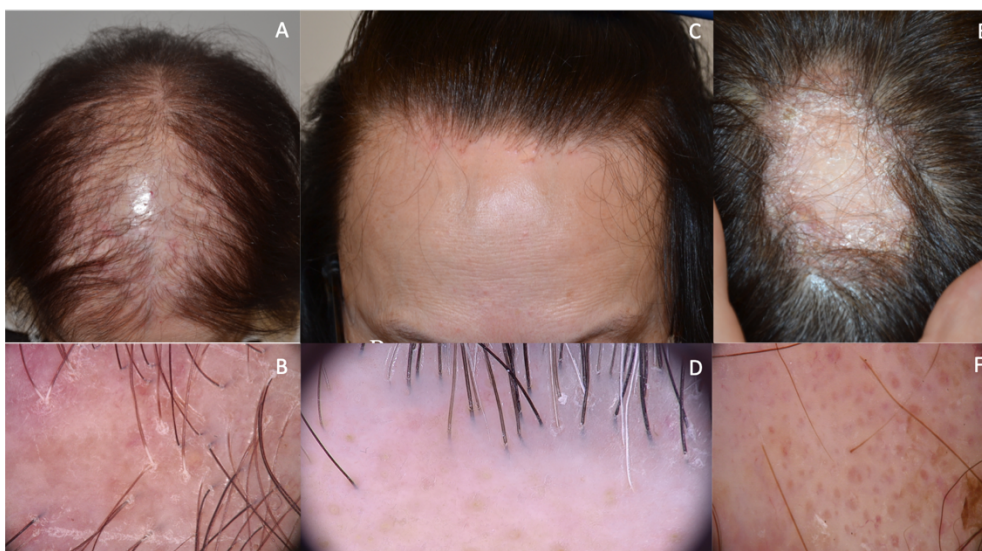


Figura 13: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di LPP; immagine clinica (C) e tricoscopica (D) di FFA; immagine clinica (E) e tricoscopica (F) di LED

Un'altra malattia di tipo cicatriziale recentemente studiata mediante RCM è la morfea lineare o “en coup de saber”, una variante clinica della morfea, che si presenta come un'area lineare depressa,

atrofica nella fronte paramediana o nel cuoio capelluto fronto-parietale. Colpisce la cute e il tessuto connettivo sottocutaneo, con possibile estensione alla muscolatura sottostante, cartilagine e osso e associazione variabile con sintomi neurologici. La perdita della struttura annessiale dovuta alla prominente sclerosi del derma è caratteristica ed è più tipica degli stadi tardivi ⁽⁵³⁾. Il processo infiammatorio e fibrosante determina un'alopecia cicatriziale aspecifica. La diagnosi si basa sull'esame istologico, caratterizzato da quadri di sparso infiltrato infiammatorio perivascolare con fibrosi lieve o assente a quadri caratterizzati da prominente sclerosi senza infiammazione.

Il mosaico RCM mostra marcate aree iperriflettenti con grave atrofia delle ghiandole eccrine, scomparsa di tutte le ghiandole sebacee con la persistenza di follicoli sporadici, di dimensioni ridotte ⁽⁵⁴⁾.

Malattie non cicatriziali

Nell'ambito delle malattie dei capelli non cicatriziali, la RCM è stata applicata per lo studio dell'alopecia areata, androgenetica e tinea capitis.

L'alopecia areata (AA) è un'alopecia di tipo autoimmune. La prevalenza di AA è stata stimata a circa lo 0,2% della popolazione generale e circa l'1,7-2,1% della popolazione sperimenta un episodio di AA durante il corso della vita ⁽⁵⁵⁾. Il picco di incidenza è compreso tra 10 e 25 anni (60%) ⁽⁵⁶⁾.

L'eziologia è sconosciuta, ma è stato postulato che un fattore di innesco, ancora poco chiaro, sia in grado di indurre il processo autoimmune in soggetti geneticamente predisposti. Ambiente (infezioni, tossine), malattie immunologiche (tiroidite, diabete di tipo 1 diabete, artrite reumatoide, vitiligine) e fattori genetici sono responsabili del suo sviluppo ⁽⁵⁷⁻⁵⁸⁾. La malattia inizia acutamente con la comparsa di una o più chiazze alopeciche, le quali possono coinvolgere qualsiasi area corporea, ma sono più frequentemente localizzate sul cuoio capelluto e sulla barba.

L'alopecia areata è un anagen effluvium; con pull test e tricoscopia è possibile stimare l'attività della malattia e monitorare la risposta ai trattamenti. Sul bordo delle chiazze attive sono presenti i tipici

peli del punto esclamativo, che sono patognomonicici della malattia. Altri segni tipici sono anche punti neri o black dots (fase acuta) e punti gialli o yellow dots, presenti soprattutto nell'AA cronica.

L'alopecia areata può presentarsi anche con alopecia diffusa, senza chiazze tipiche, in due entità: alopecia areata incognita (AAI) o alopecia areata diffusa (AAD). Con la tricoscopia il pattern più frequente è caratterizzato da punti gialli vuoti, punti gialli contenenti capelli vello e piccoli capelli in ricrescita. La presenza di peli “a codina di maiale” o pigtail hair è molto frequente e quasi esclusiva di AAI, mentre nella AAD sono più comuni capelli distrofici e punti neri, indicanti il danno infiammatorio acuto e profondo. Per queste due entità di alopecia areata, la diagnosi è istologica ⁽⁵⁹⁾.

Il decorso della AA è imprevedibile. I casi di AA che interessano meno del 40% del cuoio capelluto, spesso guariscono spontaneamente. ma il decorso è tipicamente recidivante e le ricadute potrebbero essere peggiori del primo episodio. Fattori prognostici negativi sono l'esordio nell'infanzia e l'associazione con l'atopia. La scelta del trattamento, secondo recenti linee guida ⁽⁵⁵⁾, dipende dall'estensione, dall'attività della malattia e dall'età del paziente.

La diagnosi della forma “classica” di alopecia areata è basata sulla clinica e sulla tricoscopia, ma è stato pubblicato uno studio in cui Ardigò et al ⁽⁶⁰⁾ ha anche valutato l'uso della RCM, osservando come gli yellow dots tipici di questa malattia appaiono come strutture molto luminose e facilmente riconoscibili nello strato spinoso, corrispondenti ai follicoli dilatati da un punto di vista istologico. In uno studio successivo, sono stati osservati alla RCM anche a livello dello strato basale la presenza di capelli dimorfici, cellule infiammatorie e spongiosi ⁽⁶¹⁾.

L'uso della RCM è stato valutato anche nell'alopecia androgenetica (AGA), la più comune delle alopecie non cicatriziali, colpisce fino al 50% delle donne e l'80% degli uomini ⁽⁶²⁾ con una frequenza che aumenta con l'età dopo la pubertà. La sua prevalenza è maggiore nei caucasici rispetto agli afroamericani e agli asiatici.

L'AGA è caratterizzata da un progressivo diradamento dei capelli che si sviluppa sotto l'influenza di un metabolita del testosterone, il diidrotestosterone, in un contesto di suscettibilità geneticamente determinata dei follicoli piliferi, nelle regioni frontale, temporale e del vertice.

Le manifestazioni cliniche sono diverse in entrambi i sessi. Nei maschi l'AGA determina una progressiva recessione fronto-temporale e una perdita dei capelli a livello del vertice, mentre nelle donne l'attaccatura frontale è preservata e la caduta dei capelli interessa più o meno uniformemente la regione frontale, posteriormente all'attaccatura dei capelli. È possibile un pattern femminile nell'uomo e viceversa.

L'AGA maschile viene comunemente valutata utilizzando la scala di Hamilton-Norwood che distingue 12 gradi di gravità. Nelle pazienti di sesso femminile si può utilizzare la scala di Ludwig, che distingue 3 stadi, oppure la scala Sinclair (5 stadi) o Savin (6 stadi).

Il pull test mostra tipicamente le radici in telogen, ma è la tricoscopia lo strumento più importante per la diagnosi. I reperti diagnostici sono ⁽⁶³⁾: ridotto spessore dei capelli con aumento del numero di capelli miniaturizzati (diametro inferiore a 0,03 mm); variazione del diametro dei capelli superiore al 20% nelle regioni dipendenti dagli androgeni; ridotto numero di capelli per unità pilosebacea. Nei casi dubbi, può essere eseguita una biopsia del cuoio capelluto. L'individuazione dei follicoli miniaturizzati è diagnostica, insieme ad una diminuzione dei peli terminali, dei peli anagen e dell'aumento dei peli vello e telogen. Intorno all'infundibolo si può osservare un infiltrato infiammatorio linfocitario perifollicolare da lieve a moderatamente denso ⁽⁶²⁾.

La terapia può essere topica e/o sistemica ⁽⁶⁴⁾.

Allo studio RCM, alcuni Autori ⁽⁶¹⁾ hanno evidenziato a livello della placca soprapapillare una riduzione delle aperture follicolari e follicoli piliferi miniaturizzati con presenza di fusto pilifero più piccolo del normale e cellule infiammatorie.

Anche nella tinea capitis è stato proposto l'utilizzo della RCM.

La tinea capitis è una comune infezione fungina del cuoio capelluto, dei follicoli piliferi e del fusto del capello ed è rara negli adulti (3-11% di tutti i casi), che colpisce principalmente le donne in postmenopausa, le persone di basso stato socioeconomico e gli individui immunodepressi.

Nella maggior parte di questi casi, l'infezione è dovuta a dermatofiti antropofili ed è solitamente contratta nell'ambiente familiare. La diagnosi viene posta mediante esame microscopico diretto con KOH ed esame colturale.

In particolare quest'ultimo dura circa 2 mesi ed è gravato da un elevato numero di falsi negativi. La tricoscopia è sempre più utilizzata per diagnosticare la tinea capitis e per monitorare la risposta al trattamento, poiché il segno della tinea nei capelli scompare prima della negatività della coltura ⁽⁶⁵⁾.

Alcune caratteristiche tricoscopiche sono: i capelli a codice morse, i capelli a cavaturacciolo, i capelli a virgola.

L'utilizzo della RCM nella tinea capitis e della barba è stato proposto allo scopo di ottenere una diagnosi rapida: le ife fungine sono infatti ben evidenti ⁽⁶⁶⁾, permettendo una prescrizione immediata della terapia antifungina, in attesa dell'esito dell'esame colturale.

Nella **Fig. 14** sono rappresentate le tre malattie sopramenzionate, con immagini cliniche e tricoscopiche.



Figura 14: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di AGA; immagine clinica (C) e tricoscopica (D) di AA in chiazze; immagine clinica (E) e tricoscopica (F) di AAI; immagine clinica (G) e tricoscopica (H) di tinea capitis

4.2 Tomografia ottica computerizzata

La tomografia ottica computerizzata (OCT) utilizza la tecnica swept-source con una lunghezza d'onda di 1305 nm per le immagini della cute ed è in grado di scansionare un'area di 6 x 6 mm fino a una profondità di 2 mm, con una risoluzione laterale maggiore di 7,5 μm e una risoluzione assiale maggiore di 5 μm (**Fig.15**).

Tramite l'OCT è possibile analizzare la componente vascolare grazie alla capacità di rilevare i movimenti delle cellule del sangue all'interno dei vasi.

L'OCT dinamico (D-OCT) basato sulla varianza dello speckle OCT consente il rilevamento del flusso sanguigno in vivo, visualizzando la microvascolarizzazione cutanea.

Ogni scansione produce un'immagine che tramite un algoritmo viene comparata con le scansioni immediatamente successive, producendo un'immagine in scala di grigi a cui si sovrappongono pixels di colore rosso che corrispondono al flusso di sangue.

Detta anche Tomografia ottica a radiazione coerente, è un esame diagnostico non invasivo principalmente utilizzato in campo oculistico, poichè permette di ottenere delle scansioni della retina e del nervo ottico per la diagnosi ed il follow-up di numerose patologie retiniche e della papilla ottico, tra cui la degenerazione maculare senile, la retinopatia diabetica, il glaucoma e gli edemi maculari (67-70).

Trattandosi di un esame digitalizzato consente di mettere a confronto gli esami eseguiti nel tempo dal paziente.

Questo strumento è diventato sempre più popolare nella pratica dermatologica quotidiana, ed è stato utilizzato per valutare la guarigione delle ferite, matrice extracellulare e fibrosi cutanea, malformazioni vascolari e tumori della pelle come carcinoma basocellulare, cheratosi attiniche e melanoma maligno (71).



Figura 15: Tomografo computerizzato

4.2.1 Utilizzo della tomografia ottica computerizzata nello studio delle malattie delle unghie

Negli ultimi anni, sono stati pubblicati diversi studi scientifici che hanno proposto l'utilizzo della tomografia ottica computerizzata nell'ambito delle malattie delle unghie.

Malattie infiammatorie

La psoriasi ungueale colpisce il 50-79% dei pazienti con psoriasi cutanea e fino all'80% dei pazienti con artrite psoriasica e può anche rappresentare un fattore prognostico negativo nei soggetti con psoriasi a placche ⁽⁷²⁾.

La gravità della malattia è definita da un punteggio validato, il Nail Psoriasis Severity Index (NAPSI), che è uno strumento utile per decidere il miglior trattamento e per monitorarne la risposta.

Anche l'ecografia è ampiamente utilizzata in questa malattia ⁽⁷³⁾.

Nella psoriasi ungueale sono generalmente colpite più unghie e più frequentemente quelle delle mani con segni dermoscopic specifici, mentre a livello dei piedi le alterazioni sono molto aspecifiche. I sintomi dipendono da quale porzione dell'apparato ungueale è colpita dalla malattia in generale, da un punto di vista dermoscopic, le alterazioni tipiche si localizzano a livello delle mani ma possono

eccezionalmente essere visibili anche a livello dei piedi: pitting irregolare, caratterizzato da depressioni cupoliformi della lamina ungueale che appaiono larghe, profonde e irregolari, ben visibili a secco; chiazze salmone o chiazze a macchia d'olio del letto ungueale, visibili per trasparenza attraverso la lamina come aree di colore giallastro-rosa salmone; onicolisi, a margine leggermente sfrangiato, circondata da un orletto eritematoso tipico, che appare come un bordo giallo-arancio. Altri segni meno specifici sono le emorragie a scheggia e l'ipercheratosi subungueale: in particolare quest'ultima si manifesta nella psoriasi ungueale dei piedi con squame aderenti localizzate alla parte più distale dell'unghia, che alla dermoscopia appaiono di colore argenteo o grigiastro ⁽⁷⁴⁾.

Questo dato aiuta nella diagnosi differenziale con l'ipercheratosi tipica di una onicomicosi, che è più friabile e di colore giallo-ocra, ma tali caratteristiche vengono riconosciute da un occhio esperto. L'onicoscopia riveste pertanto un ruolo marginale nella diagnosi di una sospetta psoriasi delle unghie dei piedi e l'esame micologico resta indispensabile per una diagnosi di certezza. I capillari dell'iponichio sono visualizzati con ingrandimenti 40x o superiori, ma possono anche essere visti con il dermatoscopio manuale, dove appaiono come punti rossi ⁽⁷⁵⁾.

La dermoscopia dell'iponichio ad alto ingrandimento è ampiamente utilizzata per confermare la diagnosi di psoriasi delle unghie, ed evidenzia capillari tipici irregolarmente distribuiti, dilatati, tortuosi, a forma glomerulare ^(23;76). La densità capillare è positivamente correlata alla gravità della malattia e alla risposta al trattamento. I trattamenti per la psoriasi ungueale sono limitati, poiché le unghie sono spesso difficili da trattare con le sole terapie topiche e le ricadute sono comuni.

Abignano et al ⁽⁷⁷⁾ hanno proposto l'utilizzo dell'OCT nella psoriasi ungueale, con anche lo scopo di monitorare la risposta ai trattamenti come già proposto in passato ⁽⁷⁸⁾.

Il pitting appariva come irregolarità della lamina ungueale superficiale, talvolta associate ad un'ombra sottostante, mentre l'onicolisi è apparsa come un'area irregolare iporiflettente sottostante la lamina ungueale. La leuconichia appariva all'OCT come strisce regolari lineari e lesioni iperriflettenti circoscritte; l'ipercheratosi subungueale come lesioni subungueali lineari iperriflettenti. Gli Autori

hanno evidenziato la risoluzione e/o il miglioramento della maggior parte delle lesioni presenti al basale dopo terapia.

In un altro studio ⁽⁷⁹⁾ sono state valutate anche le caratteristiche vascolari della psoriasi ungueale mediante l'OCT dinamico e questo approccio è certamente di grande interesse per valutare il grado di infiammazione provocato dalla malattia.

Una variante di psoriasi ungueale, l'acrodermatite continua di Hallopeau, è stata oggetto di un lavoro scientifico, nel quale è stata valutata la risposta al trattamento con adalimumab mediante OCT ⁽⁸⁰⁾.

Malattie infettive

L'onicomicosi è un'infezione fungina dell'apparato ungueale, causata principalmente da dermatofiti, in particolare *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton interdigitale*, seguiti da muffe non dermatofitiche, responsabili del 15% circa dei casi, e infine da lieviti del genere *Candida sp.*

Come accennato nel Capitolo III, la diagnosi si effettua mediante esame microscopico diretto ed esame colturale, ma negli ultimi anni l'onicoscopia è diventata indispensabile per completare la diagnosi. I tipi di onicomicosi in cui la dermatoscopia riveste un ruolo di grande utilità, senza però sostituire l'esame micologico, sono: onicomicosi subungueale distale (OSD), dermatofitoma, onicomicosi bianca superficiale (OBS), onicomicosi subungueale prossimale (OSP) e onicomicosi pigmentata.

La dermatoscopia di una OSD evidenzia diverse caratteristiche: strie longitudinali bianche-giallastre con aspetto ad Aurora Boreale, in cui si evidenzia una particolare dissolvenza dei colori (*Aurora Borealis pattern*); onicolisi, che tipicamente si presenta con aspetto frastagliato, con strutture nette, dirette verso la piega prossimale, dette "spikes" e ipercheratosi subungueale ⁽²¹⁾.

Un ampio studio ha descritto un nuovo modello di ipercheratosi subungueale scoperto nell'OSD, definito "*ruin appearance*" che corrisponde dermatoscopicamente alla presenza dei funghi ⁽⁸¹⁾.

Nel dermatofitoma vi è un accumulo subungueale di ife e squame che appare dermoscopicamente come un'area di forma rotonda-ovalare giallo-arancio a metà del letto ungueale, collegata da un sottile canale fino al margine distale della lamina ungueale ⁽⁸²⁾.

Nell'onicomicosi bianca superficiale, invece, la lamina ungueale presenta piccole e friabili macchie di colore bianco-giallo opaco, dovute alla presenza del fungo sulla lamina, mentre l'onicomicosi prossimale subungueale produce una colorazione biancastra al di sotto della lamina ungueale nella zona lunula, mentre la lamina ungueale rimanente è normale.

Una forma particolare di onicomicosi è poi la forma pigmentata, dovuta nella maggior parte dei casi alla variante melanoide di *Trichophyton rubrum*. La dermoscopia mostra una o più bande irregolari di colore marrone o nero associate ad ipercheratosi subungueale, caratterizzata da squame giallo-marrone ⁽⁸³⁾. Ulteriori caratteristiche dermoscopiche di onicomicosi pigmentata comprendono: pigmentazione multicolore (giallo, marrone, grigio, nero o rosso), pigmentazione nera opaca (linee, pigmentazione lineare nera interrotta o aree omogenee), aggregati di pigmento nero (granuli grossolani e / o grumi di pigmento) e una pigmentazione che risulta più larga al margine rispetto al bordo prossimale, chiamata "triangolo inverso nero" ⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾.

L'OCT è stato recentemente utilizzato per proporre parametri diagnostici di onicomicosi, con il limite però di non poter identificare l'agente patogeno ⁽⁸⁷⁾. In particolare, le caratteristiche morfologiche suggerite sono: linee iperriflettenti divise in nettamente e diffusamente delimitate; punti iperriflettenti divisi in pattern singolari e cluster; superficie irregolare, suddivisa in lieve, moderata e grave; bande scure e architettura disturbata.

Gli Autori, perfezionando studi precedenti ⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾, propongono l'OCT come un utile strumento di assistenza per aumentare la sensibilità diagnostica dei prelievi ungueali e dei test di laboratorio, nonché per monitorare la risposta al trattamento.

Tumori ungueali

Il tumore glomico è una neoformazione benigna derivata dalle cellule neuromioarteriolari glomiche del derma del letto ungueale. Esso è più frequente nel sesso femminile e si localizza generalmente alle mani, con predilezione per il 1° e il 2° dito.

Si manifesta come un nodulo più o meno visibile sotto la lamina, che caratteristicamente è associato a dolore che si irradia prossimalmente, tipicamente esacerbato dai cambiamenti di temperatura, dalla pressione e dai traumatismi anche minimi. I sintomi soggettivi superano i segni clinici, in quanto solo a volte il tumore è visibile ed appare come una macula rosso-bluastrò subungueale. All'onicoscopia appare come una lesione subungueale rosso- porpora, e può causare eritronichia longitudinale senza raggiungere però il margine distale ⁽⁹¹⁾. I tumori di maggiori dimensioni possono causare onicolisi o assottigliamento della lamina ungueale e fessurazioni dovute alla compressione della matrice.

L'ecografia è un altro strumento non invasivo recentemente proposto per la diagnosi di questo tumore ⁽²⁷⁾. La risonanza magnetica è attualmente la metodica diagnostica più precisa ⁽⁹²⁾, e consente lo studio dei tessuti adiacenti per la successiva exeresi chirurgica.

Uno studio molto interessante ⁽⁹³⁾ ha proposto l'uso dell'OCT nella diagnosi di tumore glomico: grazie, infatti, all'OCT dinamico si riesce ad evidenziare un'area ben circoscritta di aumentata vascolarizzazione compatibile con un tumore vascolare ed è inoltre possibile calcolare le dimensioni del tumore stesso.

Un altro tumore benigno dell'unghia di possibile riscontro è l'onicomatricoma. Esso è costituito da digitazioni fibroepiteliali dell'epitelio e derma della matrice che si proiettano distalmente all'interno della lamina creando dei tunnel che raggiungono il margine distale. Una parte o tutta l'unghia diventa così ispessita, ipercurvata trasversalmente e di colore giallo-bianco con emorragie a scheggia multiple. Se si osserva il margine libero della lamina, si vedono dei fori, corrispondenti all'apertura delle molteplici cavità longitudinali che contengono il tumore, conferendo al tumore un aspetto onicoscopico definito "ad alveare", che è diagnostico.

Un recente studio condotto da Cinotti et al ⁽⁹⁴⁾ ha dimostrato come tali cavità si possano osservare anche mediante l'OCT, confermando la diagnosi.

Nella **Fig. 16** sono rappresentate le malattie sopramenzionate, con immagini cliniche e onicoscopiche.

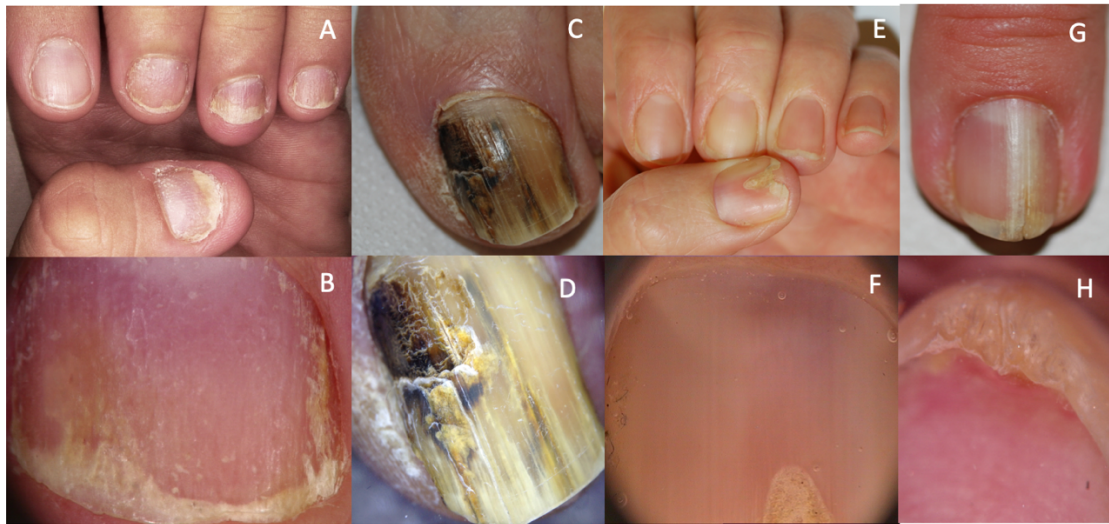


Figura 16: Immagine clinica (A) e onicoscopica (B) di pitting ungueale da psoriasi; immagine clinica (C) e onicoscopica (D) di onicomicosi pigmentata; immagine clinica (E) e onicoscopica (F) di tumore glomico; immagine clinica (G) e onicoscopica (H) di onicomatricoma

Capitolo V

Studio sperimentale

5.1 Materiali e Metodi

Lo scopo dello studio è valutare l'accuratezza diagnostica delle metodiche strumentali non invasive, in particolare dermoscopia, microscopia confocale (RCM) e tomografia ottica computerizzata (OCT), nelle patologie degli annessi cutanei, confrontate con le metodiche invasive (biopsia ed exeresi chirurgica).

È stato effettuato uno studio prospettico osservazionale in pazienti afferenti all'ambulatorio di Malattie degli Annessi Cutanei, dell'U.O. di Dermatologia (Direttore Prof.ssa Annalisa Patrizi), dell'Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna IRCCS Policlinico di Sant'Orsola, Dipartimento di Medicina Specialistica Diagnostica e Sperimentale (DIMES) dell'Università di Bologna, della durata di tre anni.

Le metodiche di microscopia confocale (RCM) e tomografia ottica computerizzata (OCT) e sono state effettuate c/o il Policlinico di Modena, U.O. Dermatologia (Direttore Prof. G.Pellacani, successivamente Direttore FF Prof. E. Villa, Ambulatorio Annessi Cutanei, Responsabile Dott.ssa M. Starace/Dott.ssa A.M. Alessandrini).

La prima parte dello studio si è focalizzata sul riconoscimento di parametri specifici per una diagnosi non invasiva delle patologie dei capelli e delle unghie, mediante l'utilizzo della dermoscopia, metodica già in uso per questo settore, ma anche delle più innovative tecniche di immagine, che comprendono OCT nelle patologie ungueali e RCM nelle patologie dei capelli.

Le patologie incluse comprendono malattie dei capelli e delle unghie di diversa natura (malattie dei capelli: alopecia areata diffusa, alopecia areata incognita, alopecie cicatriziali) (alterazioni ungueali: melanonichia, onicomicosi, psoriasi, tumori benigni (onicopapilloma, onicomatricoma, tumore

glomico) e maligni delle unghie (melanoma ungueale, carcinoma squamocellulare).

La seconda parte dello studio si è basata sulla conferma istologica del sospetto diagnostico iniziale.

Nella terza parte dello studio si è effettuato un confronto tra le diverse metodiche e una valutazione dell'accuratezza diagnostica delle stesse nelle malattie dei capelli e delle unghie.

I pazienti arruolati avevano una età maggiore di 18 anni, di entrambi i sessi. Tutti i soggetti arruolati hanno firmato un consenso informato prima di sottoporsi alle metodiche non- invasive (dermoscopia, RCM e OCT) ed invasive del cuoio capelluto e delle unghie.

Per ogni paziente sono stati raccolti i seguenti dati:

- ✓ età
- ✓ sesso
- ✓ anamnesi familiare
- ✓ epoca di insorgenza della malattia
- ✓ patologie associate
- ✓ precedenti terapie
- ✓ pull test o esame micologico se necessario
- ✓ tricoscopia/ onicoscopia
- ✓ esame istologico

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad un attento esame clinico del cuoio capelluto e dei capelli o delle unghie e sono stati sottoposti a fotografia globale.

Lo studio tricoscopico ed onicoscopico è stato eseguito mediante videodermatoscopio Fotofinder[®] con Medicam 800, indispensabile per l'archiviazione e la successiva comparazione delle immagini.

Le metodiche di OCT sono state effettuate con VivoSight® (Michelson Diagnostics, Maidstone, UK) e quelle di microscopia confocale sono state effettuate con Vivascope® 1500 e 3000 (Mavig, Munich, Germany).

Per ogni paziente sono stati valutati:

- Cuoio capelluto: l'area affetta e 5 aree diverse del cuoio capelluto (fronte, vertice, occipite, aree parietali destra e sinistra) in zone non affette.
- Unghie: pieghe prossimale e laterali, lamina/letto ungueale, margine libero e iponichio.

La biopsia cutanea è stata effettuata in anestesia locale, in un punto del cuoio capelluto selezionato con modalità "guidata dalla tricoscopia". Il prelievo è stato eseguito con punch da 4 o 5 mm, e sono stati applicati 2-3 punti di sutura a seconda dei casi. Al paziente è stata poi consigliata una medicazione locale con antisettico, da eseguire una volta al giorno, fino a rimozione dei punti di sutura, dopo 10-12 giorni.

La biopsia ungueale è stata effettuata in anestesia tronculare, selezionando l'area affetta mediante onicoscopia. È stato utilizzato un punch da 3 o 4 mm e sono stati applicati 2-3 punti di sutura a seconda dei casi. Al paziente è stata poi consigliata una medicazione locale con antisettico, da eseguire una volta al giorno, fino a rimozione dei punti di sutura, dopo 10-12 giorni. Nei casi di tumori ungueali di maggiori dimensioni, è stata effettuata exeresi chirurgica con lama 15.

5.2 Risultati

MALATTIE DEI CAPELLI

Sono stati valutati 231 pazienti (*ultimo aggiornamento 09/08/2021*):

Pazienti con diagnosi di malattie dei capelli e del cuoio capelluto: 135

- 18 pazienti con lichen plano pilare

- 10 pazienti con follicolite decalvante
- 5 pazienti con eruzione acneiforme
- 25 pazienti con alopecia frontale fibrosante
- 2 pazienti con alopecia centrale cicatriziale centrifuga
- 4 pazienti con lupus eritematoso discoide
- 28 pazienti con alopecia areata diffusa
- 40 pazienti con alopecia areata incognita
- 1 paziente con tinea capitis
- 2 pazienti con lichen simplex cronico

Pazienti con diagnosi di malattie delle unghie: 96

- 7 pazienti con lichen planus ungueale
- 13 pazienti con psoriasi ungueale
- 15 pazienti melanonichie striate a carattere benigno
- 15 pazienti con onicopapilloma
- 10 pazienti con tumore glomico
- 12 pazienti con onicomatricoma
- 8 pazienti melanonichie striate a carattere maligno
- 6 pazienti con carcinoma squamocellulare
- 10 pazienti con onicomicosi

Nell'ultimo anno di ricerca, in base alla raccolta dati effettuata nei due anni precedenti, abbiamo indirizzato il progetto verso tematiche selezionate che risultavano maggiormente rilevanti e significativi.

Più in dettaglio, abbiamo selezionato, nell'ambito delle malattie dei capelli:

- Una malattia di tipo cicatriziale
- Una malattia di tipo non cicatriziale autoimmune
- Una malattia infettiva
- Una malattia di tipo infiammatorio

Nell'ambito delle malattie delle unghie, abbiamo selezionato

- Una malattia di tipo cicatriziale
- Una malattia di tipo infiammatorio- autoimmune
- Una malattia tumorale
- Una malattia infettiva

In tal modo abbiamo potuto valutare le metodiche oggetto dello studio in maniera più specifica in diverse tipologie di malattie.

In particolare, nell'ambito delle malattie dei capelli, i dati più significativi sono stati riscontrati nei pazienti affetti da alopecia frontale fibrosante, alopecia areata incognita, tinea capitis e lichen simplex cronico, patologie in cui la diagnosi richiede una diagnostica invasiva.

5.2.1 Alopecia fibrosante frontale

Sono state arruolate 25 pazienti, tutti di sesso femminile. Di queste pazienti, 18 risultavano in menopausa (72%). L'età media era 58 anni.

Nessuna paziente aveva storia familiare di alopecia; 6 pazienti erano fumatrici (24%). La durata media della malattia è risultata 32 mesi.

Di queste pazienti, 20/25 presentavano coinvolgimento delle sopracciglia e 12/25 coinvolgimento di altre aree del corpo; 4/25 presentavano papule facciali. Tra i dati raccolti, vogliamo menzionare anche 10/25 pazienti che riferivano prurito e 7 pazienti che riferivano tricodinia.

Il pull test è risultato positivo in 10 pazienti.

In tutte le pazienti è stata effettuata tricoscopia, RCM e biopsia cutanea per conferma istologica.

Da un punto di vista tricoscopico, sono stati rilevati: assenza di osti follicolari e di peli vello/intermedi all'attaccatura in tutti i pazienti, lieve ipercheratosi follicolare, punti gialli/ yellow dots, eritema perifollicolare e presenza di "capelli solitari".

Da un punto di vista istologico, sono state evidenziati un infiltrato infiammatorio linfocitario a livello dell'istmo e dell'infundibolo dei follicoli piliferi intermedi e terminali, con aspetto lichenoidale, e fibrosi perifollicolare e lamellare con perdita di ghiandole sebacee.

Da un punto di vista di RCM, l'alopecia fibrosante frontale si caratterizza per la presenza di un infiltrato infiammatorio costituito da cellule iper-riflettenti di piccolo diametro, di forma rotondo o ovoidale, ed a localizzazione peri-follicolare, sia nell'epidermide che nel derma superficiale. Il denso infiltrato infiammatorio periinfundibolare oscura la papilla dermica e nel tempo provoca fibrosi che si presenta con fasci di collagene spessi ed iper-riflettenti intorno al follicolo pilifero.

Nella fase acuta della malattia si osservano strutture ipo-riflettenti, rotonde o lineari, nel derma superficiale corrispondenti ai vasi dilatati. Nella alopecia fibrosante frontale si possono individuare anche gli yellow dots, strutture luminali rotonde circondate da epitelio follicolare e riempite da materiale altamente luminoso corrispondente a materiale cheratosico e/o sebo.

Nell'evoluzione della malattia scompaiono gli osti follicolari che vengono sostituiti da residui di follicolo avvolti da fibrosi. Singole unità follicolari contenenti un solo capello e circondate da aree di diffusa sclerosi formata da fasci di collagene spessi ed iper-riflettenti

Nelle forme avanzate si osservano capelli solitari ovvero singole unità follicolari contenenti un solo capello e circondate da aree di diffusa sclerosi formata da fasci di collagene spessi ed iper-riflettenti

Alla luce della correlazione tra gli aspetti istologici e RCM, è possibile effettuare una diagnosi non invasiva di malattia.

Infatti, l'RCM offre la possibilità di analizzare le caratteristiche morfologiche dell'alopecia fibrosante frontale, evitando quindi l'esecuzione di una biopsia cutanea e permettendo di valutare in vivo l'andamento della malattia (**Fig.17, Tab.3**).



Figura 17: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di una paziente affetta da alopecia fibrosante frontale; immagine istologica (C) e immagini RCM (D, D')

Criteri tricoscopici	Criteri istopatologici	Criteri RCM
Assenza di osti follicolari	Assenza di osti follicolari, con fibrosi nel derma superficiale e medio	Residui di struttura follicolare circondati da fasci di collagene spessi ed iper-riflettenti intorno al follicolo pilifero
Yellow dots	Follicoli vuoti nel derma	Strutture luminali rotonde circondate da epitelio follicolare e riempite da materiale altamente luminoso corrispondente a materiale cheratosico e/o sebo
Ipercheratosi infundibolare	Fibroplasia, alterazione vacuolare, infiltrato periinfundibolare, peristmo follicolare linfocitario denso nel derma superficiale e medio. Ipercheratosi focale, ipergranulosi dell'epitelio infundibolare del follicolo	Materiale iper-riflettente che riempie l'infundibolo del follicolo pilifero e circonda il fusto del capello
Eritema perifollicolare	Fibrosi e infiltrato linfocitario periinfundibolare nel derma superficiale e medio. Si osserva, inoltre, la presenza di vasi dilatati nel derma	Denso infiltrato infiammatorio (numerosi cellule iper-riflettenti di 7-12 μm di diametro, di forma rotondo o ovoidale) periinfundibolare che oscura la papilla dermica associato a presenza di fibrosi. Strutture ipo-riflettenti, rotonde o lineari, sono rilevabili nel derma superficiale a causa dell'infiammazione e corrispondono ai vasi dilatati
Capelli solitari	Follicoli piliferi isolati	Singole unità follicolari contenenti un solo capello e circondate da aree di diffusa sclerosi formata da fasci di collagene spessi ed iper-riflettenti

Tabella 3: Correlazione tricoscopica, istologica e RCM nell'alopecia fibrosante frontale

5.2.2 Alopecia areata incognita

Sono state arruolate 40 pazienti, tutti di sesso femminile. L'età media era 39,5 anni.

Tra le pazienti arruolate, 32/40 erano anche affette da alopecia androgenetica. La durata media della malattia è risultata 10 mesi.

Il pull test è risultato positivo in 22/40 (55%) pazienti.

In tutte le pazienti è stata effettuata tricoscopia, RCM e biopsia cutanea per esame istologico.

Da un punto di vista tricoscopico, sono stati evidenziati yellow dots vuoti multipli e diffusi e yellow dots con capello vello, piccoli capelli in ricrescita, pigtail hair.

Da un punto di vista istologico, tutti i pazienti hanno mostrato un numero conservato di unità follicolari ma un numero ridotto di follicoli terminali, in particolare quelli in anagen. La caratteristica istologica più frequente osservata nella nostra casistica era la presenza di osti infundibolari dilatati (0,02 mm-0,05 mm), vuoti o pieni di cheratina, visibili sia in sezione orizzontale che verticale e corrispondenti agli yellow dots descritti dalla tricoscopia e RCM.

Il conteggio dei capelli ha mostrato un numero significativamente ridotto di follicoli anagen terminali associato ad un aumento del numero di piccoli follicoli telogen, unità germinali catagen e telogen, principalmente localizzati a livello del bulge. Anche il numero di vellus hair e follicoli miniaturizzati è aumentato. È stato inoltre osservato un lieve infiltrato infiammatorio peribulbare e dermico superiore, soprattutto intorno al bulbo dei follicoli miniaturizzati. Nei pazienti con perdita di capelli acuta e pull positivo, sono stati osservati un lieve infiltrato infiammatorio intorno al follicolo pilifero nel derma superiore e resti di tratti fibrosi nel derma e nel tessuto adiposo come risultato del rapido accorciamento del ciclo del capello.

Da un punto di vista RCM, si osservano multipli yellow dots che appaiono come strutture luminali rotonde circondate da epitelio follicolare e riempite da materiale altamente luminoso corrispondente a materiale cheratosico e/o sebo. Una parte di essi, inoltre, si presenta con all'interno un capello corto con calibro del fusto molto ridotto rispetto ai capelli di normale diametro (yellow dots con capello vello). Un infiltrato infiammatorio lieve costituito da alcune cellule iper-riflettenti di 7-12 μm di

diametro, di forma rotondo o ovoidale, localizzate a livello peribulbare e del derma superficiale. Inoltre, si osserva la presenza di capelli corti dritti o a spirale con riduzione del calibro del fusto (< di 20 μm di diametro). Alcune unità follicolari, che appaiono al RCM come strutture ovali iporiflettenti con all'interno uno o più capelli, presentano un diametro ridotto (follicoli miniaturizzati). Talvolta, si può riscontrare una lieve fibrosi costituita da fibre mal definite ed iper-riflettenti a livello del derma superficiale.

Come già affermato nel *Capitolo 3 e 4*, l'alopecia areata incognita è una malattia che necessita di biopsia cutanea per conferma istologica. Dalla correlazione ottenuta nel nostro studio, si possono identificare i segni caratteristici di alopecia areata giungendo ad una corretta diagnosi senza la necessità di eseguire una biopsia. Inoltre, l'RCM, valutando le cellule infiammatorie presenti, permette di indagare in vivo l'andamento della malattia (**Fig.18, Tab.4**).

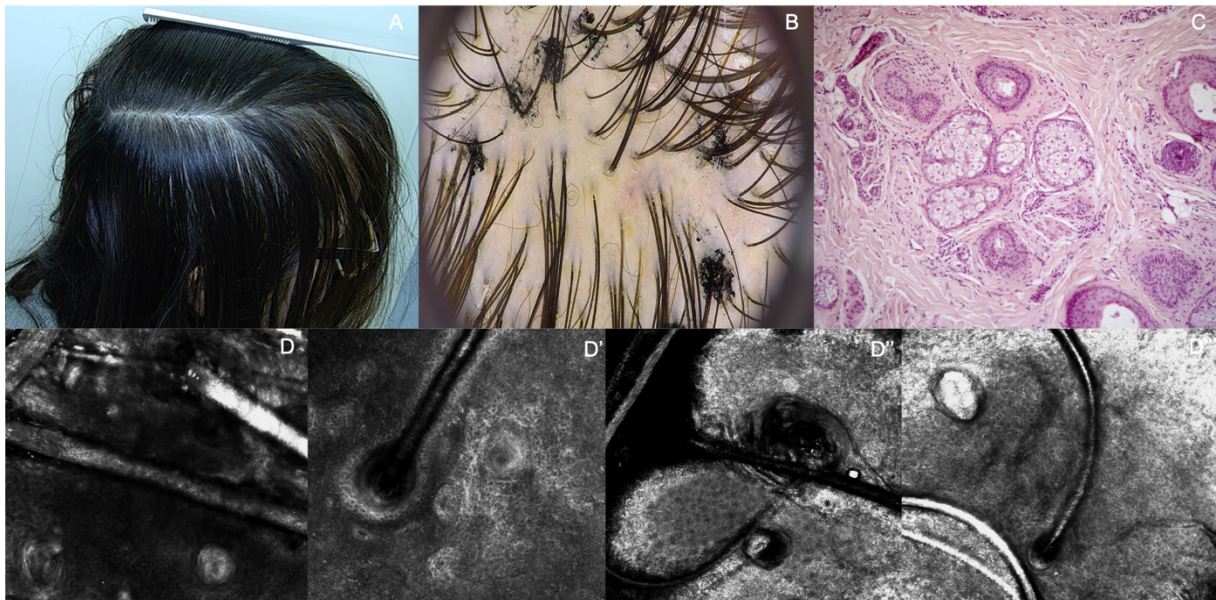


Figura 18: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di una paziente affetta da alopecia areata incognita; immagine istologica (C) e immagini RCM (D, D', D'', D''')

Criteri tricoscopici	Criteri istopatologici	Criteri RCM
Yellow dots multipli e diffusi	Ostio infundibolare vuoto o pieno di sebo/cheratina	Multiple strutture luminali rotonde circondate da epitelio follicolare e riempite da materiale altamente luminoso corrispondente a materiale cheratosico e/o sebo
Yellow dots con vellus hair	Follicoli vellus negli infundibuli dilatati	Yellow dots con all'interno un capello corto con un calibro del fusto ridotto rispetto ai capelli di normale diametro
Piccoli capelli in ricrescita	Anagen miniaturizzati-capelli vello ("nanogen")	Capelli corti dritti con riduzione del calibro del fusto (< di 20 µm di diametro)
Pigtail hair	Early anagen	Peli corti a spirale con una riduzione del calibro del fusto del capello (< di 20 µm di diametro) e estremità affusolate

Tabella 4: Correlazione tricoscopica, istologica e RCM nell'alopecia areata incognita

5.2.3 *Tinea capitis*

La paziente arruolata ha 70 anni; durata della malattia 2 mesi; riferiva perdita di capelli e prurito.

L'esame clinico ha mostrato una grave alopecia, con coinvolgimento prominente del cuoio capelluto frontale e del vertice, una pelle eritematosa con pustole e croste rosso-brune. La tricoscopia ha rivelato eritema, desquamazione, pustole e formazione di croste follicolari, con capelli a virgola, black dots e alcuni capelli spezzati. La principale diagnosi differenziale si poneva con una pustolosi erosiva del cuoio capelluto, malattia cicatriziale.

All'esame RCM, le ife fungine apparivano come strutture luminose, sottili, lineari e ramificate allo strato corneo (**Fig.19**). Le immagini RCM hanno mostrato la completa scomparsa delle ife nello strato corneo dopo un mese di terapia topica. L'esame RCM dopo 6 mesi dall'interruzione della terapia non ha mostrato alcuna anomalia dei capelli o del cuoio capelluto e i capelli erano completamente ricresciuti.

L'esame colturale è risultato negativo. Abbiamo effettuato inoltre biopsia cutanea che ha evidenziato infiltrato infiammatorio acuto e cronico e presenza di artrospore nello strato corneo.

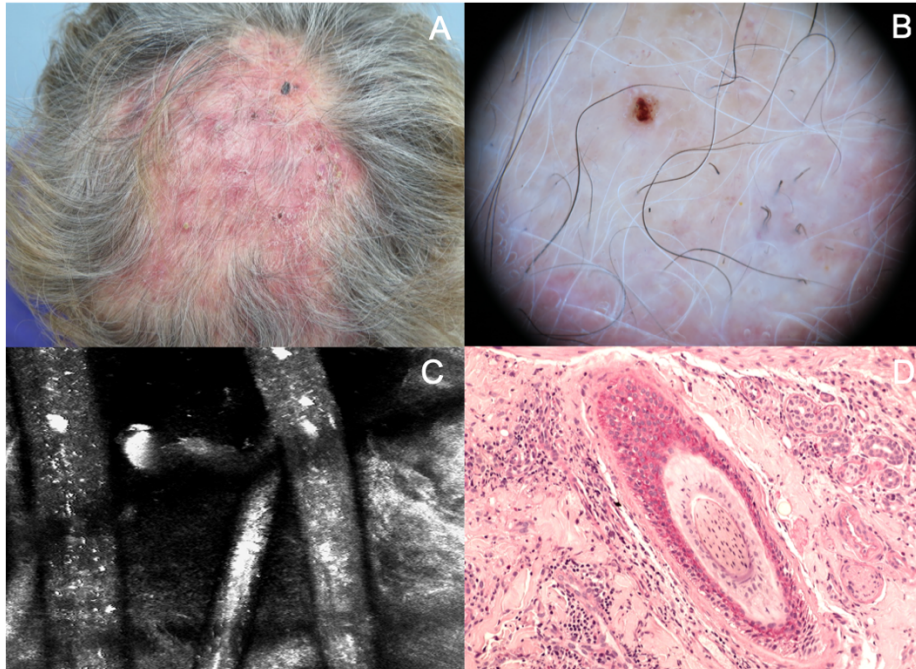


Figura 19: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) della paziente affetta da tinea capitis; immagine RCM (C) e istologica (D)

5.2.4 Lichen simplex cronico

Sono stati arruolati 2 pazienti, di sesso femminile. La durata media di malattia era di 8,2 mesi.

Il pull test risultava negativo. Tra i sintomi riferiti, sono da annotare prurito e bruciore.

Nessun paziente presentava storia familiare o personale di malattia di capelli.

Da un punto di vista tricoscopico, si evidenziava eritema e lesioni da grattamento con croste, squame perifollicolari e interfollicolari; capelli spezzati “a scopetta”, alterazioni tipo tricoressi nodosa; pigmentazione post-infiammatoria.

La RCM ha rivelato la presenza di materiale amorfo brillante con cheratinociti distaccati nello strato corneo, corrispondente a ipercheratosi (spessore $\geq 40 \mu\text{m}$). Sono state rilevate anche acantosi

(spessore $\geq 90 \mu\text{m}$), paracheratosi e ortocheratosi (cellule nucleate altamente refrattili con centro scuro e demarcazione netta e cellule anucleate scure con bordi cellulari indistinti).

Immediatamente al di sotto dello strato corneo è stato osservato un aumento degli strati e del campo di cellule con granuli luminosi al centro del nucleo, corrispondente all'ipergranulosa.

Raramente è stata osservata una lieve spongiosità, un'area più scura rispetto all'epitelio circostante dello strato spinoso con spazi intercellulari tra i cheratinociti più grandi del normale.

Alcune cellule infiammatorie (strutture cellulari rotonde piccole, singole o aggregate) sono state spesso osservate nel derma superiore, scarse cellule infiammatorie nell'epidermide e nella struttura annessiale.

Si è osservato anche un oscuramento infiammatorio della giunzione dermo-epidermica. Le papille dermiche apparivano in posizione rialzata e allargate (diametro $>80 \mu\text{m}$). All'interno delle papille dermiche sono state spesso trovate strutture canalicolari scure rotonde o lineari prominenti e corrispondenti a vasi dilatati. A livello del derma papillare è stato rilevato collagene anomalo, rappresentato da fibre pallide e mal definite, dovuto alla fibrosi e frequentemente osservati nelle LSC di vecchia data.

L'architettura del follicolo appariva conservata con una crescita di 1-4 capelli per unità follicolare (sebbene si possano osservare politrichia), ma all'interno dell'infundibolo annessiale era visibile materiale altamente rifrangente e corrispondeva all'ipercheratosi infundibolare. Inoltre, l'RCM ha mostrato la scissione del fusto del capello in due o raramente tre segmenti a livello dell'infundibolo, che assomigliava a un "hamburger" ("segno dell'hamburger"). Pertanto, sono stati osservati peli corti (lunghezza massima 1-2 mm) di spessore simile, che emergevano come un unico stelo dall'apertura follicolare e possono presentare un'ulteriore divisione distale delle punte dei capelli in due o tre minuscole estremità dei capelli. Questi peli mostravano spesso una punta più brillante che assomigliava a un bastoncino d'incenso in fiamme. Si possono notare anche altre anomalie del fusto del capello (rottura del fusto, scissione, peli corti con tricoressi nodosa di lunghezza uniforme). Infine, a livello dell'infundibolo, la guaina radicale esterna dei follicoli piliferi formava sporgenze

acantotiche frastagliate, che insieme al canale pilifero nel mezzo assomigliavano a una "ruota dentata" ("segno delle ruote dentate"). Un esempio è raffigurato nella **Fig.20**.

Alla luce della correlazione effettuata, è possibile pertanto affermare che la RCM è uno strumento aggiuntivo per la diagnosi di questa malattia, è utile per selezionare il sito di biopsia.

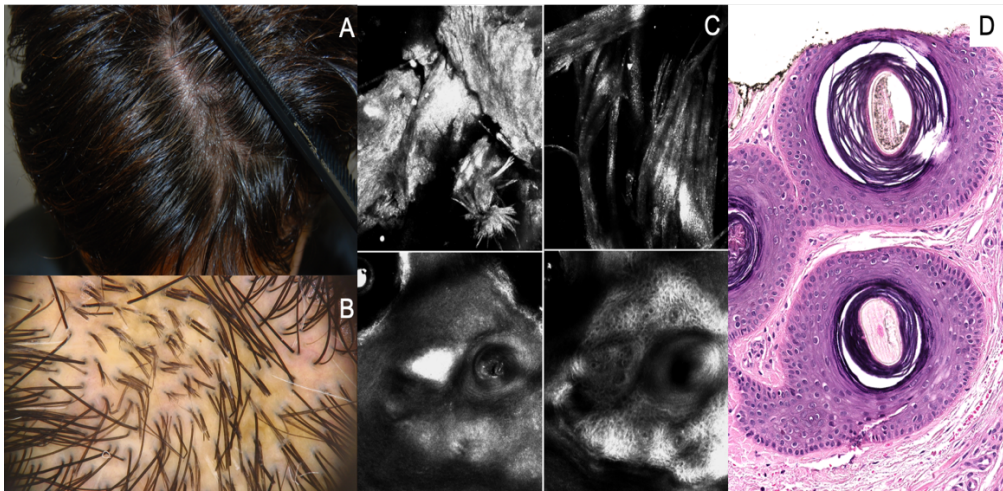


Figura 20: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di lichen simplex cronico; immagini RCM (C) e istologia (D)

MALATTIE DELLE UNGHIE

Nell'ambito delle malattie delle unghie, i dati più significativi sono stati riscontrati nei pazienti affetti lichen planus, psoriasi ungueale, tumore glomico e onicomicosi.

5.2.5 Lichen planus ungueale

Sono stati arruolati 7 pazienti, 2 di sesso femminile e 5 di sesso maschile. L'età media era 50 anni. Due pazienti presentavano la malattia in 2 unghie (I dito della mano), 5 pazienti in più di 4 unghie. La durata media di malattia era 10 mesi. Tre pazienti avevano effettuato trattamenti non specifici nei mesi precedenti alla visita, senza beneficio.

Da un punto di vista onicoscopico, abbiamo osservato fissurazioni longitudinali, pterigium dorsale, onicolisi e lieve ipercheratosi. Nessun paziente presentava anonichia.

Da un punto di vista OCT, in presenza di pterigio dorsale, la matrice viene distrutta a livello focale e appariva come un'espansione distale a forma di V della piega ungueale prossimale aderente al letto ungueale (segno "V"). La lamina ungueale appariva sottile, ondulata, irregolare e caratterizzata dalla presenza di fessure e striature longitudinali che si presentano come un'area irregolare e frammentata ad alta dispersione (che rappresenta la distruzione della lamina ungueale) e sottile spaccatura longitudinale (o fessura superficiale) iperriflettente rispettivamente, con ombra sottostante.

L'aspetto generale della lamina ungueale è simile a un "deserto con dune", dovuto alle alterazioni di superficie.

Inoltre, si sono osservati onicolisi e ipercheratosi subungueale che appare come un'area allungata e spessa ad alta dispersione in tutta la lamina ungueale simile a una "corda di nave".

È stata osservata anche un'aumentata vascolarizzazione della piega ungueale prossimale, della matrice e del letto ungueale (**Fig.21, Tab.5**).

Tutti i casi presi in esame, sono stati confermati con biopsia ungueale.

Valutando i dati ottenuti, abbiamo confermato l'utilità dell'OCT nella diagnosi di questa malattia, poiché i criteri onicoscopici si riflettono sui criteri OCT e in tal modo è possibile evitare la biopsia ungueale al paziente.

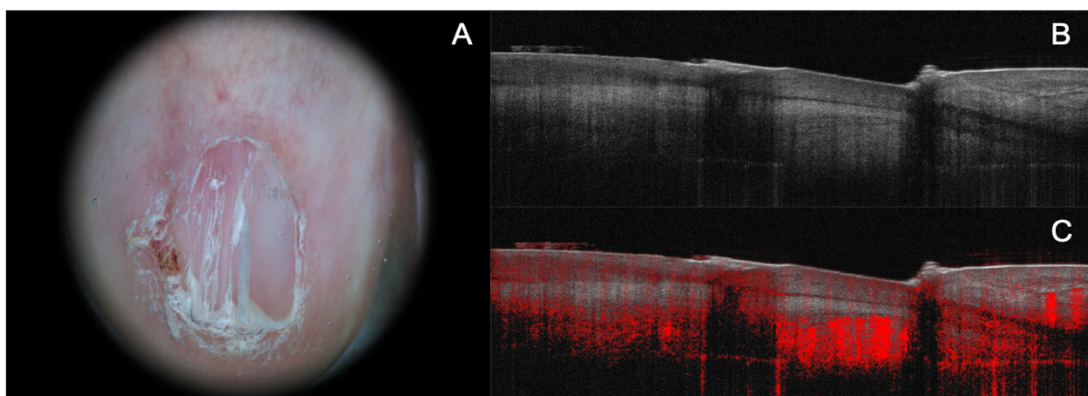


Figura 21: Immagine onicoscopica (A) di lichen planus ungueale con relativa OCT (B) e D-OCT (C)

Criteri onicoscopici	Criteri OCT
Pterigio dorsale	espansione distale a forma di V della PUP
Fissurazioni della lamina	lamina ungueale sottile, ondulata, irregolare con aree irregolari e frammentate ad alta dispersione
Onicolisi e ipercheratosi subungueale	area allungata e spessa ad alta dispersione in tutta la lamina ungueale simile a una "corda di nave"
Lunule marezzate	aumentata vascolarizzazione della piega ungueale prossimale, della matrice e del letto ungueale

Tabella 5: Correlazione tra criteri onicoscopici e OCT nel lichen ungueale

5.2.6 Psoriasi ungueale

Sono stati arruolati 13 pazienti, di cui 7 di sesso maschile e 6 di sesso femminile, con età media 38 anni. Tra questi, 10 pazienti non avevano effettuato alcuna terapia precedente, mentre 3 avevano effettuato specifica terapia, sospesa da almeno 1 mese.

In 9/13 pazienti, erano affette < 4 unghie.

Da un punto di vista onicoscopico, sono stati osservati pitting irregolare, chiazze salmone e onicolisi con bordo eritematoso. Nei casi più severi, è stato possibile evidenziare, con ingrandimenti compresi tra 40x e 70x, i capillari glomerulari tipici della malattia, a livello della piega ungueale prossimale e dell'iponichio.

Allo studio OCT, si è osservata innanzitutto una maggiore vascolarizzazione della piega ungueale prossimale; inoltre, è stata osservata una lamina ungueale più spessa e irregolare con perdita della struttura trilaminare e aspetto ondeggiante dello strato superficiale. Il letto ungueale evidenziava aree nere vuote predominanti che circondano aree grigio scuro che assomigliano a "batuffoli di cotone" o "strutture simili a nuvole".

Nello spazio tra la lamina ungueale e il letto ungueale è stata osservata un'area grigio scuro con maggiore vascolarizzazione corrispondente alla chiazza salmone osservato all'ispezione visiva o dermoscopica (**Fig.22, Tab.6**).

Tutti i casi presi in esame, sono stati confermati con biopsia ungueale.

Grazie allo studio OCT, è possibile effettuare diagnosi di psoriasi ungueale senza effettuare biopsia cutanea. Tale patologia, infatti, nei casi dubbi, può richiedere conferma istologica, ma, grazie all'uso dell'OCT, si può evitare tale procedura invasiva al paziente.

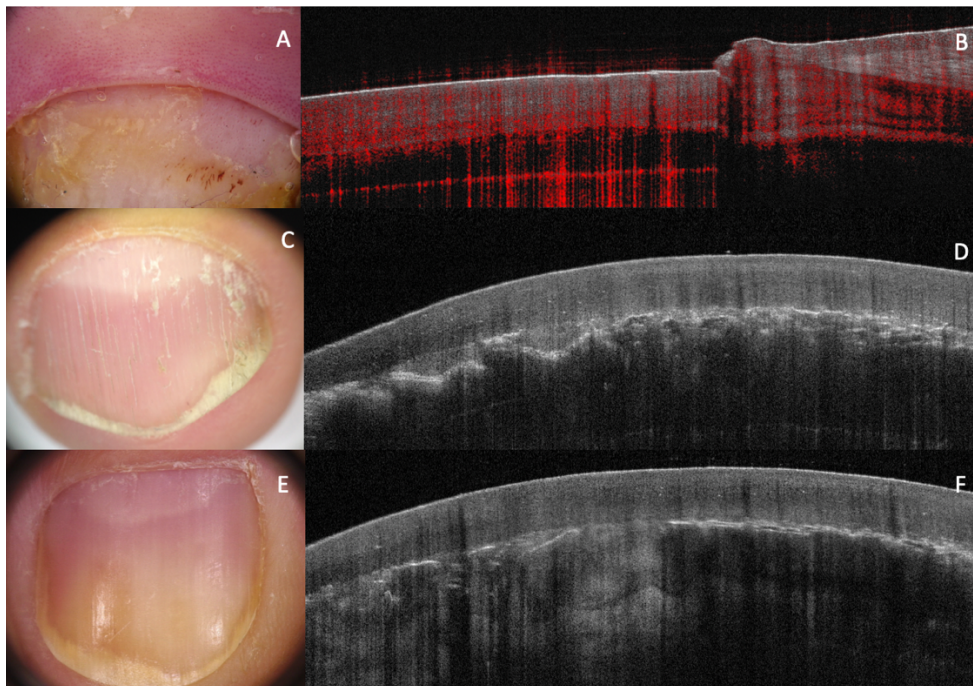


Figura 22: Psoriasi ungueale: capillari glomerulari della PUP evidenti all'onicoscopia (A) e OCT (B); pitting (C-D) e chiazze salmone (E-F)

Criteri onicoscopici	Criteri OCT
Capillari glomerulari	maggiore vascolarizzazione della PUP
Pitting irregolare	lamina ungueale più spessa e irregolare con perdita della struttura trilaminare e aspetto ondeggiante dello strato superficiale
Onicolisi con bordo eritematoso	aree nere vuote che circondano aree grigio scuro ("batuffoli di cotone" o "strutture simili a nuvole")
Chiazze salmone	un'area grigio scuro con maggiore vascolarizzazione tra lamina ungueale e letto ungueale

Tabella 6: Correlazione tra criteri onicoscopici e OCT nella psoriasi ungueale

5.2.7 Tumore glomico

Sono stati arruolati 10 pazienti, 5 di sesso maschile e 5 di sesso femminile, di età media 45 anni.

Tra questi, 9/10 era affetto in una sola unghia, mentre un paziente era affetto in due dita (II dito mano destra e II dito mano sinistra). L'unghia più colpita è risultata quella del primo dito della mano. Tutti i pazienti riferivano sintomatologia dolorosa e ai cambi di temperatura.

Da un punto di vista onicoscopico, in 8 pazienti si evidenziava la presenza di un'area o una banda rosa-rossa; in 1 paziente si evidenziava anche onicolisi distale; in un solo paziente, affetto in due unghie, l'esame clinico e onicoscopico non evidenziavano alterazioni.

Da un punto di vista OCT, in tutti i pazienti è stato possibile identificare il tumore e misurarne le dimensioni: esso appare come un'area ben circoscritta di aumentata vascolarizzazione (**Fig.23**).

Guidati anche dall'OCT, si è proceduto ad asportare chirurgicamente il tumore per conferma istologica.

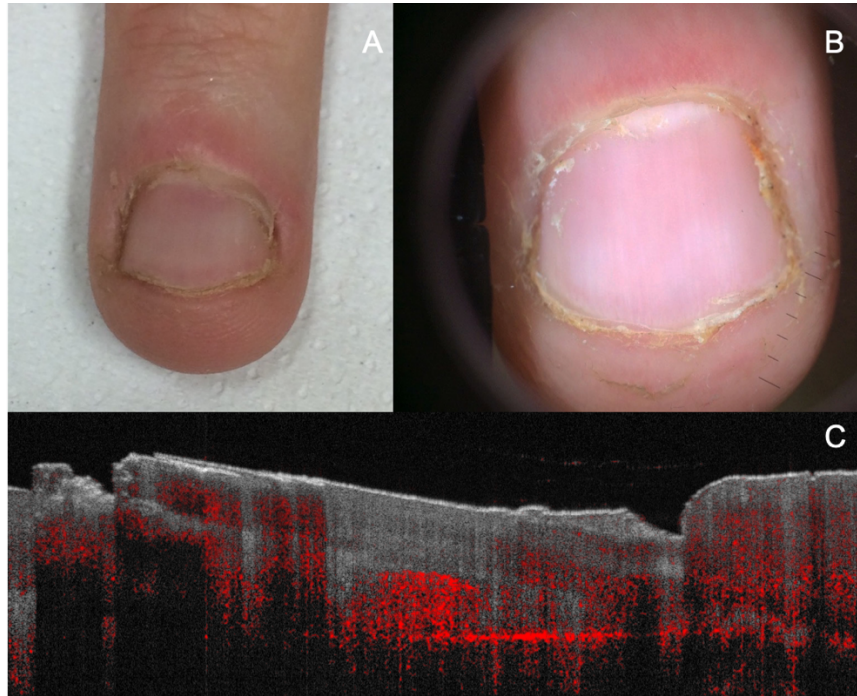


Figura 23: Immagine clinica (A) onicoscopica (B) di tumore glomico con relativa OCT (C)

5.2.8 Onicomicosi

Sono stati esaminati 10 pazienti, 8 di sesso maschile e 2 di sesso femminile, con età media 56 anni.

Nessun paziente era immunodepresso o compromesso. Due pazienti soffrivano di diabete di tipo 2.

Sette pazienti sono risultati affetti in <2 unghie, e 5/10 soffrivano anche di tinea pedis.

Da un punto di vista clinico, tutti i pazienti soffrivano di onicomicosi subungueale distale, che è il tipo più frequente. All'onicoscopia, pertanto, presentavano presenza di ipercheratosi subungueale, colorazione giallo-arancio-marrone, bordo frastagliato del margine prossimale dell'area onicolitica, con strutture chiare (spikes) dirette verso la piega prossimale.

L'esame OCT ha evidenziato una perdita di organizzazione e la presenza di strisce multiple, iperriflessive, scarsamente definite, simili a ciuffi, parallele alla superficie ungueale che invadevano il letto ungueale e la parte inferiore della lamina ungueale (**Fig.24**).

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a prelievo per esame colturale per identificare l'agente infettivo, e 2 pazienti sono stati sottoposti a biopsia ungueale con colorazione PAS.

Otto pazienti sono risultati affetti da *T.rubrum* e 2 pazienti da *T. interdigitalis*.

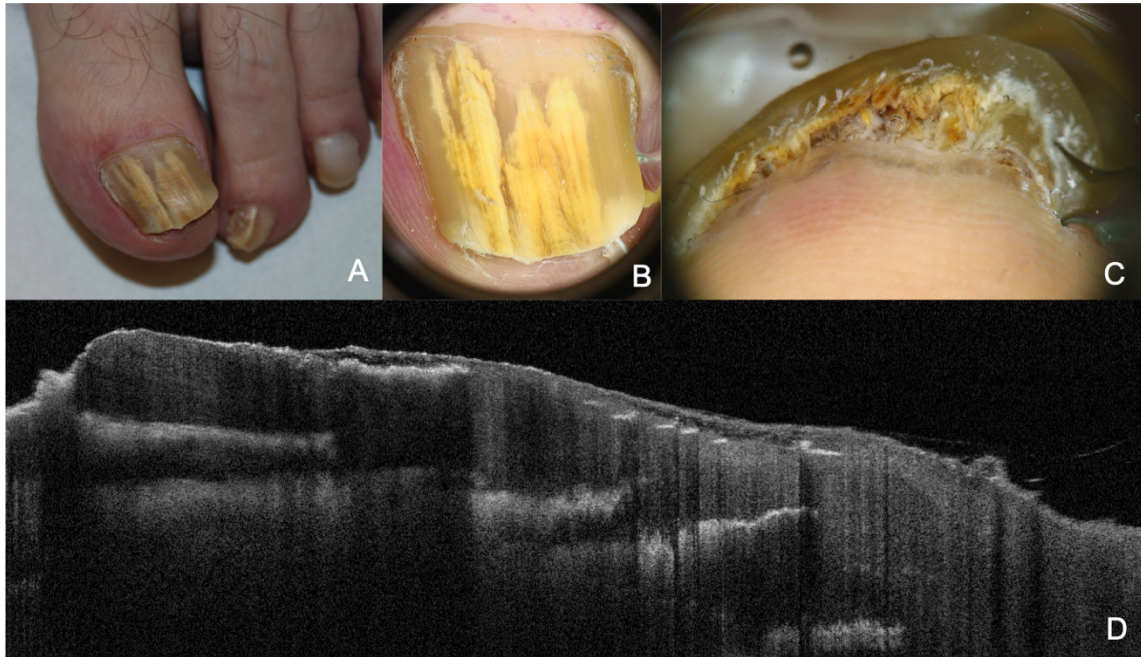


Figura 24: Immagine clinica (A) onicoscopica (B-C) di onicomicosi subunguale distale con relativa OCT (D)

5.3 Conclusioni

Le malattie degli annessi rivestono un ruolo di grande interesse nel mondo dermatologico.

Più in dettaglio, le malattie dei capelli possono avere presentazione cliniche difficili da diagnosticare senza biopsia cutanea, tecnica che richiede esperienza e la presenza di un istopatologo esperto nel settore. Inoltre, se non riconosciute, progrediscono nel tempo, esitando in alopecie cicatriziali, con assenza di ricrescita e invalidanti per il Paziente anche dal punto di vista psicologico.

Allo stesso modo, le malattie delle unghie, specie quelle cicatriziali come il lichen planus, possono richiedere una biopsia ungueale, che è di difficile esecuzione e può lasciare esiti permanenti.

Un altro fattore da considerare è la preparazione e validazione istologica che richiede tempo.

Con questi presupposti, nel corso dei tre anni di Dottorato di Ricerca, abbiamo valutato l'accuratezza diagnostica delle tecniche non invasive oggi a disposizione, con lo scopo di stabilire nuovi parametri diagnostici, che consentano una diagnosi precoce.

Nell'ambito delle malattie dei capelli, lo studio si è rivelato di grande utilità sia per alcune malattie cicatriziali sia non cicatriziali.

In specifico, per l'alopecia fibrosante frontale, siamo riusciti a stabilire una corrispondenza tra i parametri tricoscopici, istologici e RCM, che consente una diagnosi precoce di questa malattia. L'esame RCM si può eseguire nel corso della prima visita e fornisce quindi indicazione precisa di malattia cicatriziale, permettendo al dermatologo di prescrivere precocemente una terapia specifica e spiegare al Paziente le possibilità terapeutiche.

Un'altra malattia di frequente riscontro è l'alopecia areata incognita, malattia non cicatriziale, causa di importante caduta di capelli e diradamento. Grazie alla correlazione effettuata, siamo riusciti ad evidenziare che l'esame RCM permette di visualizzare in tempo reale le caratteristiche che indicano la natura infiammatoria, come ad esempio gli yellow dots e i pigtail hair, e riuscire pertanto a effettuare una diagnosi precoce, evitando la biopsia cutanea.

Nel corso dello studio abbiamo inoltre evidenziato dei parametri diagnostici tipici di lichen simplex cronico, malattia che può produrre esito cicatriziale. Anche in questo caso, con l'esame RCM la diagnosi si può eseguire in tempo reale.

Infine, il nostro interesse si è rivolto ad una malattia infettiva come la tinea capitis, diagnosi non sempre semplice, che nella sua forma più infiammatoria (*Kerion*) può causare esito cicatriziale. L'esame RCM ci ha fornito la diagnosi evidenziando il parassitamento del capello, nonostante l'esame colturale fosse risultato negativo.

Con tali presupposti, possiamo pertanto affermare che in tutte le malattie dei capelli resta fondamentale l'utilizzo della tricoscopia, che consente di evitare circa il 30% delle biopsie cutanee.

La nuova metodica di microscopia confocale trova quindi utilizzo nell'ambito delle malattie in cui la tricoscopia rappresenta solo uno step che precede la biopsia e andrebbe eseguita nei seguenti casi:

1. nel caso in cui si sospetti una malattia cicatriziale: L'RCM è infatti in grado di evidenziare le caratteristiche morfologiche di "cicatrice", come la fibrosi e l'assenza degli osti follicolari, permettendo una diagnosi precoce;
2. nel caso di caduta di capelli diffusa, senza chiazze evidenti: L'RCM è in grado di evidenziare i "segni" di patologia autoimmune tipici dell'alopecia areata, permettendo di escludere dalla diagnosi differenziale malattie come alopecia androgenetica e telogen effluvium;
3. nel caso in cui si sospetti una patologia infettiva del cuoio capelluto: L'RCM è in grado di evidenziare l'invasione fungina e indirizzare la diagnosi, completata successivamente da esame colturale;
4. nel caso di chiazze di alopecia del cuoio capelluto con capelli spezzati: L'RCM permette di evidenziare le caratteristiche morfologiche del capello alterato e "manipolato" dal Paziente.

Nell'ambito delle malattie delle unghie, abbiamo valutato malattie infiammatorie, tumorali e infettive.

Un dato molto rilevante riguarda la possibilità di effettuare diagnosi di tumore glomico mediante l'OCT, evitando al Paziente l'esecuzione di una risonanza magnetica, tecnica costosa e non sempre di facile reperibilità, accorciando in tal modo anche i tempi interventistici e i costi ospedalieri. Tale tumore, infatti, causa molto dolore al Paziente, e pertanto, dopo aver eseguito conferma con OCT, è possibile programmare l'intervento chirurgico.

Molti parametri OCT sono poi stati rilevati in corso di psoriasi ungueale, una delle malattie più frequenti che può colpire le unghie. Tale diagnosi non è sempre immediata e, specie a livello delle unghie dei piedi, può essere confusa con una onicomicosi. Nello studio siamo riusciti ad evidenziare caratteristiche OCT specifiche anche per questa malattia infettiva. In questo modo, la diagnosi può essere effettuata durante la visita, e successivamente confermata con esame micologico, che in caso di esito positivo, fornirà anche il nome dell'agente patogeno.

Infine, abbiamo valutato i parametri OCT del lichen ungueale, malattia cicatriziale che richiede sempre conferma istologica. Grazie al nostro studio, è possibile evitare al Paziente tale tecnica invasiva e intraprendere tempestivamente una terapia che arresti la progressione della malattia.

Nell'ambito delle malattie delle unghie, possiamo affermare che l'onicoscopia resta una tecnica fondamentale per effettuare alcune diagnosi differenziali e per produrre ingrandimenti dei segni specifici di malattia. La nuova tecnica OCT, tuttavia, si è rivelata estremamente utile in caso di:

1. alterazioni di superficie: l'OCT consente di valutare segni come fissurazioni longitudinali, indicandone la natura permanente, e pitting, indicandone la natura infiammatoria;
2. alterazione dei capillari: l'OCT è in grado di dimostrare l'aumentata vascolarizzazione dovuta alla malattia infiammatoria sottostante;
3. alterazioni di colore: nel caso di eritronichia, l'OCT permette di identificare e misurare la dimensione del tumore vascolare sottostante, se presente; nel caso di xantonichia (colore giallastro), L'OCT identifica l'invasione fungina, guidando l'esame culturale, e permettendo la diagnosi differenziale con onicolisi traumatica e onicodistrofia.

Riteniamo lo studio molto utile, in quanto reputiamo che una conoscenza ancora più approfondita degli strumenti non invasivi per la diagnosi precoce di malattie degli annessi cutanei sia importante a diversi livelli:

1. Tempi di diagnosi: se non riconosciute in tempo e non trattate, infatti, molte malattie possono progredire nel tempo e risultare in esiti cicatriziali, invalidanti per il Paziente anche dal punto di vista psicologico.
2. Riduzione dei costi di gestione: riduzione degli esami strumentali per conferma diagnostica.

Continueremo certamente lo studio, allo scopo di valutare le diverse caratteristiche delle malattie degli annessi, in particolar modo quelle cicatriziali e tumorali. Un campo di grande interesse sarà valutare l'accuratezza diagnostica di RCM e OCT nel monitoraggio della fase di attività di malattia, follow-up e risposta alla terapia.

Un dato importante da menzionare è che non tutte le strutture sanitarie dispongono di OCT e microscopia confocale, strumenti molto costosi, pertanto nella pratica clinica sono ancora necessari tempo e risorse per convalidare tali tecniche come di prima esecuzione nelle malattie degli annessi.

Legenda

Figure

Figura 1: (A) Bulbo di un follicolo in anagen; (B) Follicolo in catagen: la presenza di molte cellule con apoptosi permette di distinguere il follicolo in catagen dal follicolo in telogen; (C) Follicolo in telogen; (D) Unità follicolare normale, 2 follicoli terminali in anagen ed un follicolo del vello con la ghiandola sebacea a livello dell'istmo.

Figura 2: Ciclo del pelo.

Figura 3: Anatomia dell'unità ungueale

Figura 4: Vascolarizzazione arteriosa digitale.

Figura 5: Corretta esecuzione di un pull test (A): leggera trazione di un ciuffo di capelli in direzione della loro emergenza dal cuoio capelluto. Il tricogramma (B) evidenzia radici in telogen, in (C) radici in anagen con guaine.

Figura 6: Tricoscopia di alcune malattie cicatriziali del cuoio capelluto: (A) lichen plano pilare; (B) lupus eritematoso discoide; (C) alopecia fibrosante frontale; (D) follicolite decalvante.

Figura 7: Tricoscopia di alcune malattie non cicatriziali del cuoio capelluto: (A) alopecia androgenetica; (B) alopecia areata; (C) alopecia areata incognita; (D) moniletrix

Figure 8: Esempio di "guided scalp biopsy": la tricoscopia ha permesso di selezionare un'area specifica del cuoio capelluto (A). Esempio di punch biopsy (B)

Figure 9: Esempio di esame microscopico diretto (KOH) (A) e di esame colturale (B)

Figura 10: Immagine clinica (A) e dermoscopia (B) di una onicomicosi subungueale distale con bordo frastagliato ed evidenti "spikes".

Figura 11: Esostosi subungueale: immagine clinica (A), dermoscopia (B) e radiologica (C)

Figura 12: Microscopio confocale

Figura 13: Immagine clinica (A) e tricoscopia (B) di LPP; immagine clinica (C) e tricoscopia (D) di FFA; immagine clinica (E) e tricoscopia (F) di LED

Figura 14: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di AGA; immagine clinica (C) e tricoscopica (D) di AA in chiazze; immagine clinica (E) e tricoscopica (F) di AAI; immagine clinica (G) e tricoscopica (H) di tinea capitis

Figura 15: Tomografo computerizzato

Figura 16: Immagine clinica (A) e onicoscopica (B) di pitting ungueale da psoriasi; immagine clinica (C) e onicoscopica (D) di onicomicosi pigmentata; immagine clinica (E) e onicoscopica (F) di tumore glomico; immagine clinica (G) e onicoscopica (H) di onicomatricoma

Figura 17: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di una paziente affetta da alopecia fibrosante frontale; immagine istologica (C) e immagini RCM (D, D')

Figura 18: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di una paziente affetta da alopecia areata incognita; immagine istologica (C) e immagini RCM (D, D', D'', D''')

Figura 19: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) della paziente affetta da tinea capitis; immagine RCM (C) e istologica (D)

Figura 20: Immagine clinica (A) e tricoscopica (B) di lichen simplex cronico; immagini RCM (C) e istologia (D)

Figura 21: Immagine onicoscopica (A) di lichen planus ungueale con relativa OCT (B) e D-OCT (C)

Figura 22: Psoriasi ungueale: capillari glomerulari della PUP evidenti all'onicoscopia (A) e OCT (B); pitting (C-D) e chiazze salmone (E-F)

Figura 23: Immagine clinica (A) onicoscopica (B) di tumore glomico con relativa OCT (C)

Figura 24: Immagine clinica (A) onicoscopica (B-C) di onicomicosi subunguale distale con relativa OCT (D).

Tabelle

Tabella 1: Sostanze che agiscono sul ciclo del pelo

Tabella 2: Significato del pull test positivo

Tabella 3: Correlazione tricoscopica, istologica e RCM nell'alopecia fibrosante frontale

Tabella 4: Correlazione tricoscopica, istologica e RCM nell'alopecia areata incognita

Tabella 5: Correlazione tra criteri onicoscopici e OCT nel lichen ungueale

Tabella 6: Correlazione tra criteri onicoscopici e OCT nella psoriasi ungueale

Bibliografia

1. Costarelis G, Sun T-T, Lavker RM. Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell* 1990; 61: 1329-35
2. Geyfman M, Gordon W, Paus R, et al. Identification of telogen markers underscores that telogen is far from a quiescent hair cycle phase. *J Invest Dermatol* 2012; 132:721-4
3. Higgins CA, Westgate GE, Jahoda CA. From telogen to exogen: mechanisms underlying formation and subsequent loss of the hair club fiber. *J Invest Dermatol* 2009; 129: 2100-8
4. Al-Refu K. Stem cells and alopecia: a review of pathogenesis. *Br J Dermatol* 2012; 167(3):479-84
5. Yaemsiri S, Hou N, Slining MM, He K. Growth rate of human fingernails and toenails in healthy American young adults. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24:420-3
6. Perrin C, Michiels JF, Pisani A, Ortonne JP. Anatomic distribution of melanocytes in normal nail unit: an immunohistochemical investigation. *Am J Dermatopathol* 1997; 19:462-7
7. Perrin C. The 2 clinical subbands of the distal nail unit and the nail isthmus. Anatomical explanation and new physiological observations in relation to the nail growth. *Am J Dermatopathol* 2008; 30:216-21
8. Piraccini BM, Iorizzo M, Starace M, Tosti A. Drug-induced Nail Diseases. *Dermatol Clin*. 2006 Jul; 24(3): 387–91
9. Cutolo M, Sulli A, Smith V. How to perform and interpret capillaroscopy. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2013; 27(2): 237-48
10. Minisini AM, Tosti A, Sobrero AF, et al. Taxane –induced nail changes:incidence, clinical presentation and outcome. *Ann Oncol*. 2003 Feb; 14 (2): 333-7

11. Alessandrini A, Bruni F, Piraccini BM, Starace M. Common causes of hair loss - clinical manifestations, trichoscopy and therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Mar;35(3):629-640.
12. Bruni F, Alessandrini A, Starace M, Orlando G, Piraccini BM. Clinical and trichoscopic features in various forms of scalp psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Sep;35(9):1830-1837
13. Alessandrini A, Starace M, D'Ovidio R, Villa L, Rossi A, Stan TR, Calzavara-Pinton P, Piraccini BM. Androgenetic alopecia in women and men: Italian guidelines adapted from European Dermatology Forum/European Academy of Dermatology and Venereology guidelines. *G Ital Dermatol Venereol*. 2020 Oct;155(5):622-631
14. Rossi A, Muscianese M, Piraccini BM, Starace M, Carlesimo M, Mandel VD, Alessandrini A, Calvieri S, Caro G, D'arino A, Federico A, Magri F, Pigliacelli F, Amendolagine G, Annunziata MC, Arisi MC, Astorino S, Babino G, Bardazzi F, Barruscotti S, Belloni Fortina A, Borghi A, Bruni F, Caccavale S, Calzavara-Pinton P, Cameli N, Cardone M, Carugno A, Coppola R, Dattola A, De Felici Del Giudice MB, Di Cesare A, Dika E, Di Nunno D, D'ovidio R, Fabbrocini G, Feliciani C, Fulgione E, Galluzzo M, Garcovich S, Garelli V, Guerriero C, Hansel K, La Placa M, Lacarrubba F, Lora V, Marinello E, Megna M, Micali G, Misciali C, Monari P, Monfrecola G, Neri I, Offidani A, Orlando G, Papini M, Patrizi A, Piaserico S, Rivetti N, Simonetti O, Stan TR, Stingeni L, Talamonti M, Tassone F, Villa L, Vincenzi C, Fortuna MC. Italian Guidelines in diagnosis and treatment of alopecia areata. *G Ital Dermatol Venereol*. 2019 Dec;154(6):609-623
15. Alessandrini A, Starace M, Bruni F, Brandi N, Baraldi C, Misciali C, Fanti PA, Piraccini BM. Alopecia Areata Incognita and Diffuse Alopecia Areata: Clinical, Trichoscopic, Histopathological, and Therapeutic Features of a 5-Year Study. *Dermatol Pract Concept*. 2019 Oct 31;9(4):272-277

16. Rudnicka L, Olszewska M, Waśkiel A, Rakowska A. Trichoscopy in Hair Shaft Disorders. *Dermatol Clin.* 2018 Oct;36(4):421-430
17. Lecerf P, Abdy S, Vollono L, Pastushenko I, Richert B, André J. Direct examination, histopathology and fungal culture for the diagnosis of onychomycosis: A retrospective, comparative study on 2245 specimens. *Mycoses.* 2021;64(2):187-193
18. Li DG, Cohen JM, Mikailov A, Williams RF, Laga AC, Mostaghimi A. Clinical Diagnostic Accuracy of Onychomycosis: A Multispecialty Comparison Study. *Dermatol Res Pract.* 2018; 2018:2630176
19. Hajar T, Fernández-Martínez R, Moreno-Coutiño G, Vásquez Del Mercado E, Arenas R. Modified PAS stain: A new diagnostic method for onychomycosis. *Rev Iberoam Micol.* 2016;33(1):34-37
20. Starace M, Alessandrini A, Piraccini BM. Dermoscopy of the Nail Unit. *Dermatol Clin.* 2021 Apr;39(2):293-304
21. Piraccini BM, Balestri R, Starace M, Rech G. Nail digital dermoscopy (onychoscopia) in the diagnosis of onychomycosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013 Apr;27(4):509-13.
22. Alessandrini A, Starace M, Piraccini BM. Dermoscopy in the Evaluation of Nail Disorders. *Skin Appendage Disord.* 2017 May;3(2):70-82
23. Iorizzo M, Dahdah M, Vincenzi C, Tosti A. Videodermoscopy of the hyponychium in nail bed psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58(4): 714-715
24. Alessandrini A, Dika E, Starace M, Chessa MA, Piraccini BM. Diagnosis of Melanonychia. *Dermatol Clin.* 2021 Apr;39(2):255-267
25. Starace M, Dika E, Fanti PA, Patrizi A, Misciali C, Alessandrini A, Bruni F, Piraccini BM. Nail apparatus melanoma: dermoscopic and histopathologic correlations on a series of 23 patients from a single centre. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018 Jan;32(1):164-173
26. Wortsman X, Jemec GBE. Role of High-Variable Frequency Ultrasound in Preoperative Diagnosis of Glomus Tumors: A Pilot Study. *Am J Clin Dermatol.* 2009;10(1):23-7

27. Sechi A, Alessandrini A, Patrizi A, Starace M, Caposiena Caro RD, Vara G, Brandi N, Golfieri R, Piraccini BM. Ultrasound features of the subungual glomus tumor and squamous cell carcinomas. *Skin Res Technol*. 2020 Nov;26(6):867-875
28. Sechi A, Starace M, Alessandrini A, Caposiena Caro RD, Piraccini BM. Digital Myxoid Cysts: Correlation of Initial and Long-Term Response to Steroid Injections. *Dermatol Surg*. 2021 May 1;47(5):e146-e152
29. Das PC, Hassan S, Kumar P. Subungual Exostosis - Clinical, Radiological, and Histological Findings. *Indian Dermatol Online J*. 2019 Mar-Apr;10(2):202-203
30. Starace M, Alessandrini A, Dika E, Piraccini BM. Squamous cell carcinoma of the nail unit. *Dermatol Pract Concept*. 2018;8(3):238-244
31. Mundada P, Becker M, Lenoir V, Stefanelli S, Rougemont AL, Beaulieu JY, Boudabbous S. High resolution MRI of nail tumors and tumor-like conditions. *Eur J Radiol*. 2019 Mar;112:93-105
32. Richert B. Basic nail surgery. *Dermatol Clin*. 2006 Jul;24(3):313-22
33. Richert B, Theunis A, Norrenberg S, André J. Tangential excision of pigmented nail matrix lesions responsible for longitudinal melanonychia: evaluation of the technique on a series of 30 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2013 Jul;69(1):96-104
34. Lambertini M, Piraccini BM, Fanti PA, Dika E. Mohs micrographic surgery for nail unit tumours: an update and a critical review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018 Oct;32(10):1638-1644
35. Neczyporenko F, André J, Torosian K, Theunis A, Richert B. Management of in situ melanoma of the nail apparatus with functional surgery: report of 11 cases and review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014 May;28(5):550-7
36. Rajadhyaksha M, Marghoob A, Rossi A. Reflectance confocal microscopy of skin in vivo: From bench to bedside. *Lasers Surg Med*. 2017;49:7-19

37. Sticchi A, Manfredini M, Ciardo S, Cotena C, Longhitano S, Chello C, Cesinaro AM, Farnetani F, Pellacani G, Puviani M. Reflectance confocal microscopy of neurothekeoma: case report. *Int J Dermatol*. 2021 Aug 20
38. Farnetani F, Pedroni G, Lippolis N, Giovani M, Ciardo S, Chester J, Kaleci S, Pezzini C, Cantisani C, Dattola A, Manfredini M, Dika E, Patrizi A, Pellacani G. Facial seborrheic keratosis with unusual dermoscopic patterns can be differentiated from other skin malignancies by in vivo reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Jun 23
39. Farnetani F, Pedroni G, Lippolis N, Giovani M, Ciardo S, Chester J, Kaleci S, Pezzini C, Cantisani C, Dattola A, Manfredini M, Dika E, Patrizi A, Pellacani G. Facial seborrheic keratosis with unusual dermoscopic patterns can be differentiated from other skin malignancies by in vivo reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Jun 23
40. Guida S, Longhitano S, Ardigò M, Pampena R, Ciardo S, Bigi L, Mandel VD, Vaschieri C, Manfredini M, Pezzini C, Arginelli F, Farnetani F, Zerbinati N, Longo C, Pellacani G. Dermoscopy, confocal microscopy and optical coherence tomography features of main inflammatory and autoimmune skin diseases: A systematic review. *Australas J Dermatol*. 2021 Aug 23
41. Monnier J, De Carvalho N, Harris U, Garfinkel J, Saud A, Navarrete-Dechent C, Liopyris K, Reiter O, Rubinstien G, Iftimia N, Nehal KS, Markova A, Deng L, Rossi AM, Marghoob AA, Marchetti MA, Rotemberg V, Pellacani G, Jain M. Combined reflectance confocal microscopy and optical coherence tomography to improve the diagnosis of equivocal lesions for basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2021 May 5: S0190-9622(21)00623-X
42. Rudnicka L, Olszewska M, Rakowska A. In vivo reflectance confocal microscopy: usefulness for diagnosing hair diseases. *J Dermatol Case Rep*. 2008 Dec 27;2(4):55-9

43. Agozzino M, Donadio C, Franceschini C, Ardigò M. Therapeutic follow-up of Lichen Planopilaris using in vivo reflectance confocal microscopy: a case report. *Skin Res Technol.* 2015 Aug;21(3):380-3
44. Rakowska A, Slowinska M, Kowalska-Oledzka E, Warszawik O, Czuwara J, Olszewska M, Rudnicka L. Trichoscopy of cicatricial alopecia. *J Drugs Dermatol.* 2012 Jun;11(6):753-8
45. Kurzeja M, Czuwara J, Walecka I, Olszewska M, Rudnicka L. Features of classic lichen planopilaris and frontal fibrosing alopecia in reflectance confocal microscopy: A preliminary study. *Skin Res Technol.* 2021 Mar;27(2):266-271
46. Brandi N, Starace M, Alessandrini A, Misciali C, Piraccini BM. First Italian case of frontal fibrosing alopecia in a male. *G Ital Dermatol Venereol.* 2019 Feb 4
47. Tengattini V, Alessandrini A, Misciali C, Patrizi A, Piraccini BM. Pseudoxanthoma elasticum-like papillary dermal elastolysis in frontal fibrosing alopecia. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2018 Sep;16(9):1136-1138
48. Starace M, Brandi N, Alessandrini A, Bruni F, Piraccini BM. Frontal fibrosing alopecia: a case series of 65 patients seen in a single Italian centre. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019 Feb;33(2):433-438
49. Ardigò M, Agozzino M, Franceschini C, Lacarrubba F. Reflectance Confocal Microscopy Algorithms for Inflammatory and Hair Diseases. *Dermatol Clin.* 2016 Oct;34(4):487-496
50. Hordinsky M. Cicatricial alopecia: discoid lupus erythematosus. *Dermatol Ther.* 2008 Jul-Aug;21(4):245-8
51. Somani N, Bergfeld WF. Cicatricial alopecia: classification and histopathology. *Dermatol Ther.* 2008 Jul-Aug;21(4):221
52. Melo DF, De Carvalho N, Ardigò M, Pellacani G, Mota ANCM, Barreto TM, Jorge Machado C, Pineiro-Maceira JM, Barcaui CB. Concordance among in vivo reflectance confocal microscopy, trichoscopy, and histopathology in the evaluation of scalp discoid lupus. *Skin Res Technol.* 2020 Sep;26(5):675-682

53. Rongioletti F, Ferreli C, Atzori L, Bottoni U, Soda G. Scleroderma with an update about clinico-pathological correlation. *G Ital Dermatol Venereol*. 2018 Apr;153(2):208–15
54. Mazzilli S, Vollono L, Cosio T, Donati M, Piccolo A, Di Raimondo C, Campione E, Bianchi L. Reflectance Confocal Microscopy Applied to Linear (en Coup de Sabre) Morphea. *Skin Appendage Disord*. 2020 Jun;6(3):171-174
55. Rossi A, Muscianese M, Piraccini BM, et al. Italian Guidelines in diagnosis and treatment of alopecia areata. *G Ital Dermatol Venereol*. 2019;154(6):609–623
56. Strazzulla LC, Wang EHC, Avila L, Lo Sicco K, Brinster N, Christiano AM, Shapiro J. Alopecia areata: Disease characteristics, clinical evaluation, and new perspectives on pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2018 Jan; 78(1):1-12
57. Kalkan G, Seçkin HY, Benli İ, et al. Relationship between manganese superoxide dismutase (MnSODAla-9Val) and glutathione peroxidase (GPx1 Pro 197 Leu) gene polymorphisms and alopecia areata. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(11):21533-40
58. Bhanusali DG, Sachdev A, Olson MA, et al. PTPN22 profile indicates a novel risk group in Alopecia areata. *Hum Immunol* 2014;75(1):81-7
59. Alessandrini A, Starace M, Bruni F, Brandi N, Baraldi C, Misciali C, Fanti PA, Piraccini BM. Alopecia Areata Incognita and Diffuse Alopecia Areata: Clinical, Trichoscopic, Histopathological, and Therapeutic Features of a 5-Year Study. *Dermatol Pract Concept*. 2019 Oct 31;9(4):272-277
60. Ardigò M, Tosti A, Cameli N, Vincenzi C, Misciali C, Berardesca E. Reflectance confocal microscopy of the yellow dot pattern in alopecia areata. *Arch Dermatol*. 2011 Jan;147(1):61-4
61. Ardigò M, Agozzino M, Franceschini C, Donadio C, Abraham LS, Barbieri L, Sperduti I, Berardesca E, González S. Reflectance confocal microscopy for scarring and non-scarring alopecia real-time assessment. *Arch Dermatol Res*. 2016 Jul;308(5):309-18

62. Piraccini BM, Alessandrini A. Androgenetic alopecia. *G Ital Dermatol Venereol*. 2014 Feb;149(1):15-24
63. Rakowska A, Slowinska M, Kowalska-Oledzka E, Olszewska M, Rudnicka L. Dermoscopy in female androgenic alopecia: method standardization and diagnostic criteria. *Int J Trichology*. 2009 Jul;1(2):123-30
64. Alessandrini A, Starace M, D'Ovidio R, Villa L, Rossi A, Stan TR, Calzavara-Pinton P, Piraccini BM. Androgenetic alopecia in women and men: Italian guidelines adapted from European Dermatology Forum/European Academy of Dermatology and Venereology guidelines. *G Ital Dermatol Venereol*. 2020 Oct;155(5):622-631
65. Waśkiel-Burnat A, Rakowska A, Sikora M, Ciechanowicz P, Olszewska M, Rudnicka L. Trichoscopy of Tinea Capitis: A Systematic Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2020 Feb;10(1):43-52
66. Cinotti E, Perrot JL, Labeille B, Raberin H, Flori P, Cambazard F. Hair dermatophytosis diagnosed by reflectance confocal microscopy: six cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015 Nov;29(11):2257-9
67. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurengi G. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res*. 2018 May;64:1-55
68. Van Melkebeke L, Barbosa-Breda J, Huygens M, Stalmans I. Optical Coherence Tomography Angiography in Glaucoma: A Review. *Ophthalmic Res*. 2018;60(3):139-151
69. Invernizzi A, Cozzi M, Staurengi G. Optical coherence tomography and optical coherence tomography angiography in uveitis: A review. *Clin Exp Ophthalmol*. 2019 Apr;47(3):357-371
70. Semenova NS, Larichev AV, Akopyan VS. 'Swept source' - opticheskaia kogerentnaia tomografiia: obzor tekhnologii [Swept source optical coherence tomography: a technology review]. *Vestn Oftalmol*. 2020;136(1):111-116

71. Gambichler T, Pljakic A, Schmitz L. Recent advances in clinical application of optical coherence tomography of human skin. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015; 8: 345–354
72. Bardazzi F, Starace M, Bruni F, Magnano M, Piraccini BM, Alessandrini A. Nail Psoriasis: An Updated Review and Expert Opinion on Available Treatments, Including Biologics. *Acta Derm Venereol*. 2019 May 1;99(6):516-523
73. Fassio A, Giovannini I, Idolazzi L, Zabotti A, Iagnocco A, Sakellariou G. Nail ultrasonography for psoriatic arthritis and psoriasis patients: a systematic literature review. *Clin Rheumatol*. 2020 May;39(5):1391-1404
74. Chauhan A, Singal A, Grover C, Sharma S. Dermoscopic Features of Nail Psoriasis: An Observational, Analytical Study. *Skin Appendage Disord*. 2020 Jul;6(4):207-215
75. Lencastre A, Lamas A, Sà D, Tosti A. Onychoscopy. *Clin Dermatol* 2013; 31(5): 587-59
76. Iorizzo M, Starace M, Di Altobrando A, Alessandrini A, Veneziano L, Piraccini BM. The value of dermoscopy of the nail plate free edge and hyponychium. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Jul 13
77. Abignano G, Laws P, Del Galdo F, Marzo-Ortega H, McGonagle D. Three-dimensional nail imaging by optical coherence tomography: a novel biomarker of response to therapy for nail disease in psoriasis and psoriatic arthritis. *Clin Exp Dermatol*. 2019 Jun;44(4):462-465
78. Aydin SZ, Castillo-Gallego C, Ash ZR, Abignano G, Marzo-Ortega H, Wittmann M, Del Galdo F, McGonagle D. Potential use of optical coherence tomography and high-frequency ultrasound for the assessment of nail disease in psoriasis and psoriatic arthritis. *Dermatology*. 2013;227(1):45-51
79. Aldahan AS, Chen LL, Fertig RM, Holmes J, Shah VV, Mlacker S, Hsu VM, Nouri K, Tosti A. Vascular Features of Nail Psoriasis Using Dynamic Optical Coherence Tomography. *Skin Appendage Disord*. 2017 Jan;2(3-4):102-108

80. Conti A, Ciardo S, Mandel VD, Bigi L, Pellacani G. Speckled variance optical coherence tomography for the assessment of nail involvement in acrodermatitis continua of Hallopeau: A case study. *J Int Med Res.* 2016 Sep;44(1 suppl):119-123
81. De Crignis G, Valgas N, Rezende P, Leverone A, Nakamura R. Dermatoscopy of onychomycosis. *Int J Dermatol.* 2014 Feb;53(2): e97-9
82. Jesús-Silva MA, Fernandez-Martinez R, Roldan-Marin R, Arenas R. Dermoscopic patterns in patients with a clinical diagnosis of onychomycosis-result of a prospective study including data of potassium hydroxide (KHO) and culture examination. *Dermatol Pract Concept* 2015; 5(2): 39-44
83. Starace M, Ambrogio F, Bruni F, Piraccini BM, Alessandrini A. Dermatophytic melanonychia: A case series of an increasing disease. *Mycoses.* 2021 May;64(5):511-519
84. Wang YJ, Sun PL. Fungal melanonychia caused by *Trichophyton rubrum* and the value of dermoscopy. *Cutis.* 2014 Sep;94(3): E5-6
85. Braun RP, Baran R, Le Gal FA, Dalle S, Ronger S, Pandolfi R, Gaide O, French LE, Laugier P, Saurat JH, Marghoob AA, Thomas L. Diagnosis and management of nail pigmentation. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56(5): 835-847
86. Kilinc Karaarslan I, Acar A, Aytmur D, Akalin T, Ozdemir F. Dermoscopic features in fungal melanonychia. *Clin Exp dermatol* 2015; 40(3): 271-278
87. Olsen J, Lindsø Andersen P, Themstrup L, Jemec GBE, Saunte DML. Optical coherence tomography of onychomycosis: proposed terminology and a suggestion of practical usage. *Arch Dermatol Res.* 2020 Jan;312(1):51-58
88. Abuzahra F, Spöler F, Först M, Brans R, Erdmann S, Merk HF, Obrigkeit DH. Pilot study: optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic perspective for real time visualisation of onychomycosis. *Mycoses.* 2010 Jul;53(4):334-9

89. Rothmund G, Sattler EC, Kaestle R, Fischer C, Haas CJ, Starz H, Welzel J. Confocal laser scanning microscopy as a new valuable tool in the diagnosis of onychomycosis - comparison of six diagnostic methods. *Mycoses*. 2013 Jan;56(1):47-55
90. Verne SH, Chen L, Shah V, Nouri K, Tosti A. Optical Coherence Tomography Features of Dermatophytoma. *JAMA Dermatol*. 2018 Feb 1;154(2):225-227
91. Grover C, Jayasree P, Kaliyadan F. Clinical and onychoscopic characteristics of subungual glomus tumor: a cross-sectional study. *Int J Dermatol*. 2021 Jun;60(6):693-702
92. Mundada P, Becker M, Lenoir V, Stefanelli S, Rougemont AL, Beaulieu JY, Boudabbous S. High resolution MRI of nail tumors and tumor-like conditions. *Eur J Radiol*. 2019 Mar; 112:93-105
93. Rajabi-Estarabadi A, Eber AE, Tsatalis J, Vazquez T, Perper M, Nouri K, Tosti A. Optical coherence tomography in evaluation of glomus tumours: a report of three cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019 Sep;33(9):e331-e334
94. Cinotti E, Veronesi G, Labeille B, Cambazard F, Piraccini BM, Dika E, Perrot JL, Rubegni P. Imaging technique for the diagnosis of onychomatricoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018 Nov;32(11):1874-1878