UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

Digital Pathology e Patologia Chirurgica Pediatrica: Il Supporto della Microscopia Confocale e dell'Intelligenza Artificiale per una Diagnosi di Precisione

Relatore: Chiar.ma
Prof.ssa Gaia Goteri

Tesi di Laurea di:
Ilir Qose

A.A. 2023/2024

Indice

1. Introduzione:

1.1. Contesto e Motivazioni: L'Evoluzione della Patologia Digitale e l'Importanza dell'Interazione Uomo-Macchina

1.2. Obiettivi della Ricerca: Ottimizzare la Diagnosi Pediatrica Attraverso l'Interazione Sinergica tra patologia digitale, microscopia focale e IA

1.3. Struttura della Tesi: Percorso Logico e Articolazione dei Capitoli

2. Fondamenti e Applicazioni della Digital Pathology in Pediatria:

2.1. La Digital Pathology: Una Rivoluzione Paradigmatica nella Diagnostica

2.2. Applicazioni Cliniche in Patologia Chirurgica Pediatrica

3. Microscopia Confocale: Uno Strumento Avanzato per la Diagnosi Pediatrica:

3.1. Principi e Fondamenti della Microscopia Confocale

3.2. Il VivaScope 2500 M-G4: Caratteristiche Tecniche e Applicazioni Specifiche

3.3. Confronto con le Tecniche Tradizionali e il ruolo nella Diagnosi Intraoperatoria

4. Intelligenza Artificiale per la Diagnosi di Precisione in Pediatria:

4.1. Introduzione all'Intelligenza Artificiale nel Contesto della Patologia Pediatrica

4.2. L'Interazione Patologo-IA: L'Interazione Patologo-IA: Un Modello di Supporto Decisionale Clinico. Come l'IA supporta il patologo

4.3. Considerazioni Etiche e Regolatorie sull'Uso dell'IA in Medicina

5. Studio Sperimentale: Analisi Comparativa tra Diagnosi Tradizionale e AI-Assisted

5.1. Preparazione ed Approvazione etica

5.2. Raccolta ed organizzazione dei dati

5.3. Configurazione dell'Intelligenza Artificiale

5.4. Esecuzione dell'analisi

5.5. Valutazione ed analisi comparativa

6. Prospettive Future della Digital Pathology in Europa:

6.1. Sviluppo di Progetti Europei: Dalla Ricerca all'Implementazione Clinica tra AI e Digital Pathology
6.2. AnPathology: Uno Strumento AI-Driven per la Gestione Integrata dei Casi Clinici

7. Conclusioni e Direzioni Future:

7.1. Riepilogo dei Risultati Chiave Ottenuti dallo Studio
7.2. Limiti della Ricerca e Possibili Approfondimenti Futuri

Disclaimer: *Per la realizzazione di questo lavoro sono stati utilizzati i seguenti strumenti software :*
a- Zotero per la gestione della bibliografia , basata sulla ricerca di papers su portali open come Pubmed; ArXiv ed un abbonamento su Nejm AI.
b- Claude 3.7- Sonnet di Anthropic per le generazioni dei diagrammi , le correzioni del testo, ricerca e rifinizione di parte del contenuto descrittivo dei capitoli 2 e 4

Introduzione

1.1. Contesto e Motivazioni: L'Evoluzione della Patologia Digitale e l'Importanza dell'Interazione Uomo-Macchina

La patologia digitale sta assumendo un ruolo sempre più determinante nella medicina contemporanea, inaugurando scenari innovativi che ridefiniscono i paradigmi diagnostici tradizionali. L'integrazione sinergica di tecnologie all'avanguardia, in particolare la microscopia confocale e l'Intelligenza Artificiale (IA), sta trasformando profondamente l'operatività dell'anatomia patologica, catalizzando una rivoluzione metodologica che promette di ottimizzare sia l'accuratezza diagnostica che l'efficienza del processo decisionale clinico. Questa convergenza tecnologica non rappresenta una semplice evoluzione incrementale, ma piuttosto un cambiamento radicale nelle modalità con cui i tessuti biologici vengono visualizzati, analizzati e interpretati, aprendo nuove frontiere nella precisione e personalizzazione della diagnosi patologica

Tra le tecnologie emergenti, la microscopia confocale ex vivo a fluorescenza (FCM) si sta distinguendo per le sue notevoli potenzialità. Essa offre la prospettiva di analizzare i tessuti con tempi di processazione notevolmente ridotti, configurandosi come una valida alternativa all'analisi istologica intraoperatoria tradizionale, specialmente in ambito pediatrico, dove la rapidità nell'ottenere informazioni diagnostiche può risultare determinante [1]. L'esperienza maturata con il VivaScope 2500 M-G4 presso l'Ospedale Salesi suggerisce un potenziale miglioramento della qualità diagnostica e una incrementata efficienza nell'analisi delle lesioni pediatriche, come confermato da recenti studi in questo ambito [2].

Parallelamente, l'IA sta rivoluzionando interi settori, medicina inclusa. L'IA dimostra notevoli capacità nell'interpretazione di immagini digitali in patologia, possibilità di elaborare una grande quantità di dati e di generare regole. L'integrazione dell'IA può supportare il patologo nell'identificazione di pattern complessi e nella formulazione di diagnosi. Nel corso della nostra ricerca, intendiamo evidenziare un aspetto complementare e spesso trascurato: l'efficacia dell'IA non dipende esclusivamente dalla sofisticazione algoritmica dei sistemi implementati. Un elemento di pari rilevanza risiede nella qualità dell'interfaccia cognitiva tra il patologo e il sistema intelligente, compromessa frequentemente da una limitata consapevolezza delle potenzialità e dell'accessibilità attuale di questi strumenti. L'interazione subottimale, caratterizzata da protocolli comunicativi ambigui o frammentari, rischia di attenuare significativamente il potenziale contributo dell'IA nel contesto clinico-decisionale. Di conseguenza, per ottimizzare l'impatto di queste tecnologie, risulta imperativo considerare non solo la dimensione tecnico-scientifica, ma anche l'architettura relazionale attraverso cui i clinici interrogano, interpretano e integrano le informazioni generate dai sistemi di intelligenza artificiale.

Sulla base di tali premesse, abbiamo sviluppato la presente ricerca presso il Dipartimento di Anatomia Patologica dell'Università Politecnica delle Marche (UnivPM), in collaborazione con l'Ospedale Salesi di Ancona. Invece di focalizzarci primariamente sullo sviluppo di

nuovi algoritmi, abbiamo optato per l'esplorazione di una strategia integrativa e potenzialmente molto utile: l'ottimizzazione dell'interazione patologo/IA mediante il Prompt Engineering e l'utilizzo di strumenti largamente accessibili che già oggi possono giocare un ruolo cruciale anche nella Patologia digitale. La nostra finalità è di dimostrare attraverso questo lavoro come affinare la formulazione delle "richieste" o "istruzioni" (prompt) che il patologo indirizza all'IA, con l'obiettivo di migliorare la comunicazione tra medico e sistema automatizzato e la collaborazione.

Inoltre, è fondamentale considerare , che una interazione ben strutturata non solo stimola ed accresce la collaborazione ma può essere la base per ulteriori passi avanti in futuro, nello specifico è da tenere presente il potenziale del Prompt Engineering nel promuovere un'integrazione più fluida dell'IA con le infrastrutture informatiche ospedaliere esistenti, come i sistemi PACS (Picture Archiving and Communication System) e EHR (Electronic Health Record). Ottimizzando la capacità dell'IA di "comprendere" e "rispondere" in modo accurato alle esigenze del patologo, potremmo favorire uno scambio di dati più strutturato e sinergico tra l'IA e altre fonti di informazione clinica. Tale prospettiva potrebbe rivelarsi particolarmente vantaggiosa per arricchire le analisi IA con l'anamnesi del paziente, le immagini radiologiche e altri dati rilevanti, ampliando così il valore diagnostico complessivo. L'altro aspetto è la possibilità di integrare in futuro il Prompt Engineering con tecnologie come il Retrieval-Augmented Generation (RAG). Il RAG combina il recupero di dati da database esterni con la generazione di risposte contestuali, potenziando l'IA con conoscenza dinamica e aggiornata. Questa integrazione potrebbe migliorare ulteriormente l'accuratezza e la pertinenza delle diagnosi, fornendo ai patologi informazioni sempre aggiornate e contestualizzate.

I casi studiati nel capitolo sono 22, pocchi per potere costruire delle statistiche, ma i risultati raggiunti sono sicuramente abbastanza per dimostrare l'enorme potenziale di crescita che può essere sbloccato dalla cooperazione Anatomo-Patologo / (Patologia Digitale - Microscopia Confocale - AI).

1.2. Obiettivi della Ricerca: Ottimizzare la Diagnosi Pediatrica Attraverso l'Interazione Sinergica tra patologia digitale, microscopia focale e IA.

La presente ricerca si propone di esplorare e definire nuove strategie per ottimizzare la diagnosi in patologia chirurgica pediatrica, con particolare attenzione all'integrazione sinergica di tre elementi chiave: la Patologia digitale, la microscopia confocale e l'Intelligenza Artificiale (IA), con l'obiettivo primario di potenziare l'assistenza all'anatomo-patologo.

Obiettivo Primario: Attraverso un Case Study pratico, la Ricerca Sperimentale su 22 Pazienti, dimostrare un percorso per supportare l'attività dell'anatomo-patologo nello scenario complesso della patologia chirurgica pediatrica , attraverso l'esplorazione di strumenti complementari – microscopia confocale, intelligenza artificiale – che possano contribuire a migliorare, in sinergia con l'esperienza clinica, l'accuratezza e l'efficienza del processo diagnostico. L'intento è quello di fornire spunti operativi e metodologie integrabili nella pratica quotidiana, in un'ottica di collaborazione sinergica tra tecnologia e competenza umana.

Obiettivi Specifici:

Definire il Ruolo della Microscopia Confocale: Valutare l'impatto della microscopia confocale (FCM), in particolare del VivaScope 2500 M-G4, nella diagnosi intraoperatoria delle patologie chirurgiche pediatriche. Analizzare la sua capacità di fornire informazioni diagnostiche rapide e accurate, ma anche come produttore di dati medici affidabili.
Sfruttare il Potenziale dell'IA: Indagare le potenzialità dell'IA nell'analisi delle immagini di microscopia confocale e istologiche, focalizzandosi sull'interpretazione di pattern complessi, interpretazione e gestione integrata di dati a supporto al processo decisionale del patologo.
Ottimizzare l'Interazione Uomo-Macchina: Esplorare il Prompt Engineering come metodologia per migliorare la comunicazione tra il patologo e i sistemi di IA. Migliorare questo rapporto anche per rompere una barriera e far crescere la consapevolezza sull'accessibilità di questi strumenti.
Integrare l'IA nel Workflow Clinico: In un approccio bottom-up proporre strategie per l'integrazione efficace dell'IA nel flusso di lavoro della patologia digitale, considerando l'interoperabilità con i sistemi PACS e EHR.
Promuovere la Ricerca: Contribuire alla ricerca in Digital Pathology, in linea con le attività in corso presso l'Università Politecnica delle Marche. In particolare, ci proponiamo di integrare i risultati ottenuti con le ricerche condotte da staff Univpm, focalizzate sull'applicazione della patologia digitale e della microscopia confocale in ambito pediatrico e gli obiettivi del Centro di Ricerca e Servizio di Intelligenza Artificiale & Sanità Digitale in Medicina e Biologia (AIDH) di UnivPM.
Proporre il lancio di AnPathology: Una Startup Innovativa come Spin Off UnivPM.



1.3. Struttura della Tesi: Percorso Logico e Articolazione dei Capitoli

La struttura della tesi è articolata in 7 capitoli, secondo un percorso logico e dettagliato:

Introduzione: 1.1. Contesto e Motivazioni: L'Evoluzione della Patologia Digitale e l'Importanza dell'Interazione Uomo-Macchina 1.2. Obiettivi della Ricerca: Ottimizzare la Diagnosi Pediatrica Attraverso l'Interazione Sinergica tra

patologia digitale, microscopia focale e IA. 1.3. Struttura della Tesi: Percorso Logico e Articolazione dei Capitoli

Fondamenti e Applicazioni della Digital Pathology in Pediatria: 2.1. La Digital Pathology: Una Rivoluzione Paradigmatica nella Diagnostica 2.2. Applicazioni Cliniche in Patologia Chirurgica Pediatrica

Microscopia Confocale: Uno Strumento Avanzato per la Diagnosi Pediatrica: 3.1. Principi e Fondamenti della Microscopia Confocale 3.2. Il VivaScope 2500 M-G4: Caratteristiche Tecniche e Applicazioni Specifiche 3.3. Confronto con le Tecniche Tradizionali e il ruolo nella Diagnosi Intraoperatoria

Intelligenza Artificiale oggi per assistere alla Diagnosi di Precisione in Pediatria: 4.1. Introduzione all'Intelligenza Artificiale nel Contesto della Patologia Pediatrica 4.2. L'Interazione Patologo-IA: Un Modello di Supporto Decisionale Clinico.Come l'AI supporta (non sostituisce) il patologo 4.3. Considerazioni Etiche e Regolatorie sull'Uso dell'IA in Medicina

Studio Sperimentale: Analisi Comparativa tra Diagnosi Tradizionale e AI-Based: 5.1. Preparazione ed Approvazione della commissione etica regionale 5.2. Raccolta ed organizzazione dei dati 5.3. Configurazione dell'Intelligenza Artificiale 5.4. Esecuzione dell'analisi 5.5. Valutazione ed analisi comparativa

Prospettive Future della Digital Pathology in Europa: 6.1. Sviluppo di Progetti Europei: Dalla Ricerca all'Implementazione Clinica tra AI e Digital Pathology 6.2. AnPathology: Uno Strumento AI-Driven per la Gestione Integrata dei Casi Clinici

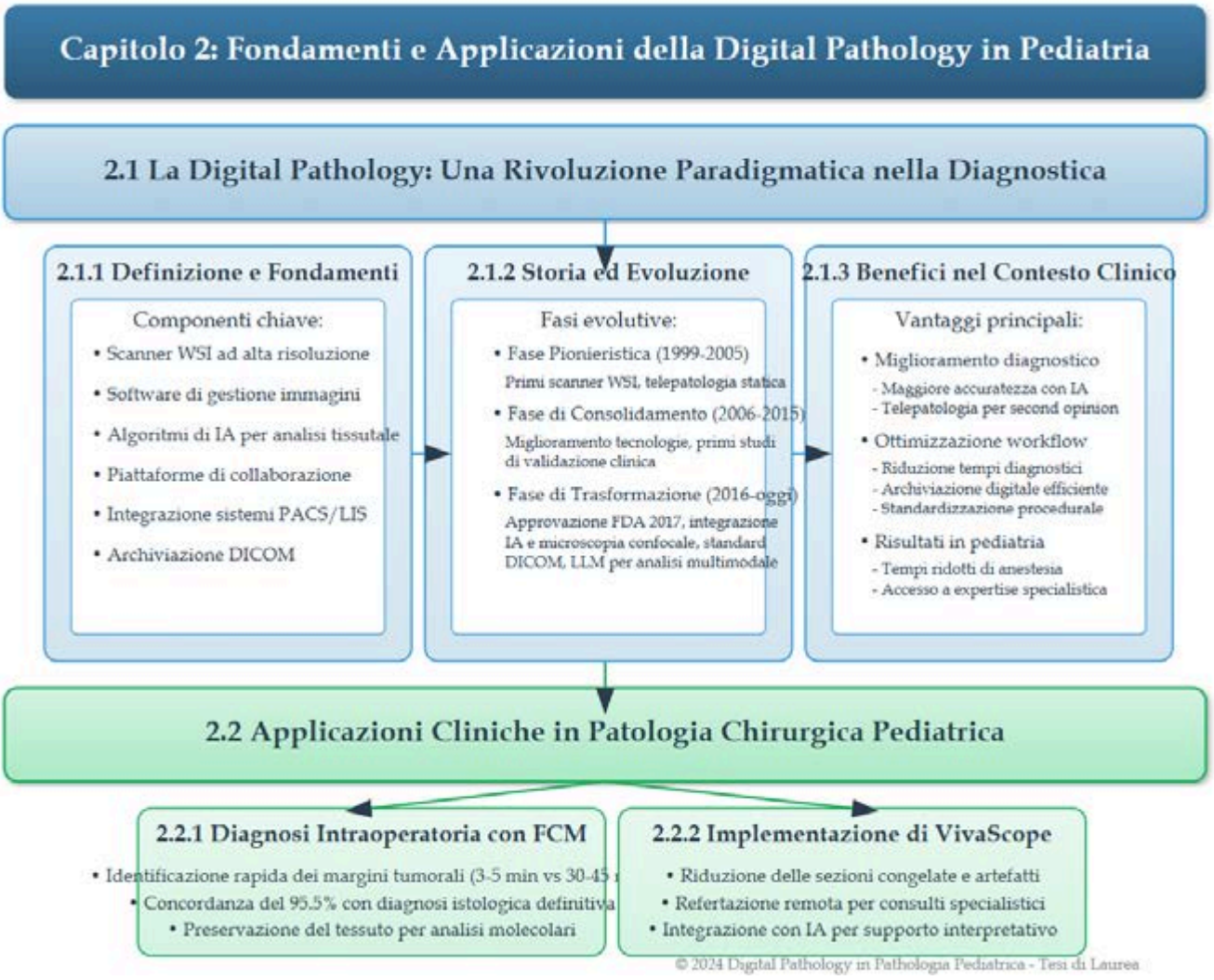
Conclusioni e Direzioni Future: 7.1. Riepilogo dei Risultati Chiave Ottenuti dallo Studio 7.2. Limiti della Ricerca e Possibili Approfondimenti Futuri

Bibliografia

[1] Di Fabrizio, D., Bindi, E., Ilari, M., Filosa, A., Goteri, G. and Cobellis, G. (2024) 'Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy Meets Innovation and Revolutionary Technology, for "Real-Time" Histological Evaluation, in Pediatric Surgical Oncology', Children, 11(12) (1.1).

[2] Gretser, S., Kinzler, M. N., Theilen, T. M., Wild, P. J., Vogler, M. and Gradhand, E. (2024) 'Fluorescence confocal microscopy for evaluation of fresh surgical specimens and consecutive tumor cell isolation in rare pediatric tumors', Virchows Archiv. (1.2).

Capitolo 2: Fondamenti e Applicazioni della Digital Pathology in Pediatria



2.1 La Digital Pathology: Una Rivoluzione Paradigmatica nella Diagnostica

2.1.1 Definizione e Fondamenti della Digital Pathology

La Digital Pathology (DP) rappresenta un cambio di paradigma fondamentale nella diagnostica istopatologica, traducendo l'analisi microscopica tradizionale dei tessuti in un innovativo flusso di lavoro completamente digitale. Questo processo evolutivo, reso possibile dall'acquisizione di immagini digitali ad alta risoluzione dell'intero vetrino istologico *(Whole Slide Imaging, WSI)*, permette l'archiviazione, la gestione, l'analisi e la condivisione delle informazioni diagnostiche in modo efficiente, sicuro e innovativo, superando i limiti fisici e temporali della microscopia ottica convenzionale.

Come sottolineato da Fraggetta et al. (2018), "la Digital Pathology non si limita alla semplice digitalizzazione delle immagini, ma rappresenta un ecosistema tecnologico complesso e integrato che trasforma radicalmente la disciplina" [1]. Questo ecosistema integra una serie di tecnologie complementari che includono:

Scanner WSI: Strumenti di precisione in grado di acquisire immagini ad alta risoluzione dell'intero vetrino istologico, mantenendo dettagli cellulari e tissutali cruciali per la diagnosi accurata.

Software di gestione delle immagini (IMS): Piattaforme dedicate all'archiviazione, organizzazione, visualizzazione e analisi delle immagini WSI, spesso integrate con sistemi di Intelligenza Artificiale (IA) per l'automazione di task diagnostici.

Algoritmi di IA: Sistemi di Machine Learning e Deep Learning addestrati per riconoscere pattern specifici nelle immagini istologiche, come la classificazione di tumori, la quantificazione di biomarcatori e la segmentazione di aree di interesse. Questi algoritmi possono analizzare migliaia di caratteristiche visive in modo sistematico, superando i limiti dell'analisi visiva umana.

Piattaforme di collaborazione: Strumenti che facilitano la condivisione di immagini e dati tra patologi, clinici e ricercatori, abilitando consulti a distanza, second opinion e progetti di ricerca collaborativi, superando barriere geografiche e logistiche.

Questa convergenza di tecnologie trasforma la Anatomia Patologica in una disciplina basata sui dati (data-driven), aprendo nuove possibilità per la medicina di precisione, la ricerca traslazionale e l'ottimizzazione dei percorsi diagnostico-terapeutici, specialmente in ambiti complessi come la patologia pediatrica. L'implementazione di un sistema di Digital Pathology comporta una radicale ristrutturazione dei flussi di lavoro tradizionali, con un impatto significativo sull'intera catena del valore diagnostico, dall'acquisizione del campione alla refertazione finale e all'archiviazione.

2.1.2 Storia ed Evoluzione della Digital Pathology

L'evoluzione della Digital Pathology può essere tracciata attraverso diverse fasi evolutive, ognuna caratterizzata da progressi tecnologici e una crescente adozione clinica che ha trasformato gradualmente la pratica istopatologica:

Fase Pionieristica (1999-2005): I primi scanner WSI, sviluppati alla fine degli anni '90, offrivano risoluzione limitata e velocità di acquisizione estremamente lente, richiedendo ore per digitalizzare un singolo vetrino [2]. La telepatologia era principalmente statica, basata sulla condivisione di singole immagini selezionate manualmente, con evidenti limitazioni diagnostiche. In questa fase, l'applicazione principale era nel campo dell'educazione e della ricerca, con scarso impatto sulla pratica clinica quotidiana.

Fase di Consolidamento (2006-2015): Miglioramenti significativi nella tecnologia WSI hanno portato a una maggiore risoluzione, velocità di scansione notevolmente superiori e sviluppo di software IMS più sofisticati [3]. La telepatologia è evoluta verso sistemi dinamici che permettevano la navigazione a distanza dell'intero vetrino, aprendo la strada ai primi consulti clinici digitali. Durante questo periodo, iniziarono a emergere i primi studi di validazione che confrontavano la diagnosi digitale con la microscopia convenzionale, dimostrando livelli di concordanza sempre più elevati. Le piattaforme di gestione delle immagini hanno iniziato a integrarsi con i sistemi informativi di laboratorio (LIS) esistenti, migliorando l'efficienza del flusso di lavoro.

Fase di Trasformazione Digitale (2016-oggi): L'approvazione regolatoria per la diagnosi primaria da parte della FDA nel 2017 [7] ha rappresentato un punto di svolta, legittimando l'uso clinico della Digital Pathology. L'integrazione dell'IA ha aggiunto un livello di supporto diagnostico automatizzato [8], mentre l'avvento della microscopia confocale ha esteso le capacità della Digital Pathology alla diagnosi intraoperatoria in tempo reale [9]. L'adozione di standard come DICOM per l'imaging patologico [10] ha migliorato l'interoperabilità tra diversi sistemi e piattaforme, facilitando la condivisione e l'analisi dei dati su scala più ampia. Questi progressi hanno accelerato significativamente l'adozione clinica della Digital Pathology, trasformandola da tecnologia emergente a standard di cura in molti centri avanzati.

Evoluzione dei Modelli IA in Patologia Digitale:

2016-2018: Emergono i primi algoritmi di classificazione binaria (es. tessuto normale vs. tumorale) basati su reti neurali convoluzionali (CNN) con risultati promettenti. Un esempio emblematico è lo studio di Bejnordi et al. (2017) che ha dimostrato come alcuni algoritmi di deep learning potessero superare le performance dei patologi nella rilevazione di metastasi nei linfonodi in pazienti con cancro al seno [11].
2019-2021: Sviluppo di modelli multitask in grado di segmentare, quantificare e classificare simultaneamente diverse caratteristiche istopatologiche, migliorando l'efficienza e la precisione diagnostica. Già prima del 2020 sono stati modelli di apprendimento debolmente supervisionato applicati a vetrini interi, dimostrando la scalabilità dell'approccio su dataset di grandi dimensioni .
2022-oggi: Affermazione di modelli foundation e Large Language Models (LLM) che

integrano informazioni testuali e analisi delle immagini per diagnosi più precise e personalizzate. Chen et al. (2022) hanno sviluppato un'analisi pan-cancer integrativa istologico-genomica attraverso il deep learning multimodale, aprendo nuove prospettive per la medicina di precisione [13].

Prospettive Future:

Maggiore integrazione con altre specialità diagnostiche e modalità di imaging, come evidenziato da Schürch et al. (2020) nella loro analisi dei "neighborhood cellulari coordinati" nell'immunità antitumorale [14].
Sviluppo di AI esplicabile (XAI) per una maggiore trasparenza e comprensione dei processi decisionali algoritmici. [15].
Automazione crescente dei flussi di lavoro diagnostici completi, come delineato nel white paper dell'Associazione di Patologia Digitale [16].

2.1.3 Benefici della Digital Pathology nel Contesto Clinico

La Digital Pathology offre una serie di vantaggi significativi rispetto alla patologia tradizionale, con implicazioni particolarmente rilevanti nel contesto della patologia pediatrica:

Miglioramento della Diagnosi e Collaborazione:

Maggiore accuratezza diagnostica grazie all'analisi quantitativa e all'utilizzo dell'IA come supporto decisionale. McGenity et al. (2023) hanno dimostrato attraverso una meta-analisi che l'integrazione di algoritmi di IA può migliorare la sensibilità e specificità diagnostica fino al 12% in alcune patologie [18].
Telepatologia per consulti rapidi e second opinion, riducendo significativamente le disparità geografiche nell'accesso alle cure specialistiche. Sono state validate delle reti di teleconsulto basata su WSI.
Integrazione con la microscopia confocale per diagnosi intraoperatorie rapide e precise, particolarmente cruciale in ambito pediatrico dove la limitazione del tempo chirurgico rappresenta un fattore critico. Di Fabrizio et al. (2024) hanno dimostrato come questa tecnologia possa ridurre i tempi diagnostici intraoperatori da 30-45 minuti a soli 3-5 minuti, con un impatto diretto sull outcome chirurgico [20].

Ottimizzazione del Workflow Clinico:

Riduzione dei tempi diagnostici attraverso l'automazione dei processi e l'accesso simultaneo ai casi da parte di più patologi, come evidenziato da Bruce et al. (2024) nel loro studio sull'implementazione della patologia digitale nei laboratori clinici [21].
Archiviazione digitale sicura, efficiente e facilmente accessibile, con la possibilità di recuperare rapidamente casi storici per confronti o revisioni. La documentazione tecnica di VivaScope DICOM Proxy (2022) descrive in dettaglio le modalità di integrazione della microscopia confocale con i sistemi informativi ospedalieri esistenti [22].

Standardizzazione delle procedure diagnostiche con conseguente riduzione della variabilità inter-osservatore, particolarmente importante nelle patologie rare o complesse che richiedono un elevato grado di specializzazione.
La combinazione di questi vantaggi crea un ecosistema diagnostico più efficiente, accurato e collaborativo, con benefici tangibili sia per i professionisti sanitari che per i pazienti pediatrici. L'ottimizzazione del flusso di lavoro non solo migliora l'efficienza operativa dei laboratori di patologia, ma ha un impatto diretto sulla qualità dell'assistenza sanitaria, riducendo i tempi di attesa per una diagnosi definitiva e migliorando l'appropriatezza delle decisioni terapeutiche.

2.2 Applicazioni Cliniche in Patologia Chirurgica Pediatrica

2.2.1 Diagnosi Intraoperatoria con Microscopia Confocale (FCM)

La Fluorescence Confocal Microscopy (FCM) sta emergendo come strumento fondamentale nella chirurgia pediatrica oncologica, offrendo vantaggi unici rispetto alle tecniche diagnostiche intraoperatorie convenzionali come l'esame istologico al congelatore:
Individuazione immediata dei margini tumorali intraoperatori senza la necessità di colorazione istologica tradizionale, un vantaggio cruciale nella chirurgia oncologica pediatrica dove la conservazione del tessuto sano è prioritaria.

Diagnosi ultra-rapide, con tempi di processazione e analisi inferiori a 5 minuti rispetto alle 1-2 ore dell'esame al congelatore e alle 24-48 ore della patologia convenzionale [24]. Questa riduzione drastica dei tempi ha implicazioni significative sulla durata dell'anestesia, particolarmente importante nei pazienti pediatrici.

Elevata sensibilità e specificità, con valori superiori al 90% nei tumori pediatrici, come documentato da Di Fabrizio et al. (2024) nella loro analisi prospettica su una coorte di pazienti pediatrici sottoposti a chirurgia oncologica [25].

Preservazione del tessuto per analisi molecolari successive, un aspetto fondamentale nell'era della medicina di precisione, dove la caratterizzazione molecolare dei tumori pediatrici guida sempre più le decisioni terapeutiche. A differenza dell'esame al congelatore, la FCM non compromette la qualità del tessuto per analisi immunoistochimiche o genetiche.

Visualizzazione in tempo reale della microarchitettura tissutale con risoluzione cellulare, permettendo al chirurgo di adattare l'approccio operatorio in base a informazioni istologiche immediate. Questa capacità di "istologia virtuale" in tempo reale rappresenta una rivoluzione nel campo della chirurgia guidata dall'imaging.

Studi pilota, come quello condotto all'Ospedale Salesi di Ancona da Di Fabrizio et al. (2024), dimostrano l'efficacia della FCM nella diagnosi intraoperatoria di diverse patologie pediatriche, inclusi tumori solidi, lesioni del sistema nervoso centrale e patologie dei tessuti molli, con un impatto significativo sulla gestione chirurgica e la prognosi. La loro esperienza ha evidenziato una altissima concordanza tra la diagnosi FCM intraoperatoria e la diagnosi istologica definitiva [8].

2.2.2 Implementazione di VivaScope nella Diagnosi Pediatrica

Il VivaScope 2500 M-G4, un sistema di microscopia confocale ex vivo all'avanguardia, offre vantaggi specifici in ambito pediatrico che lo rendono particolarmente adatto alla diagnosi rapida e accurata delle patologie chirurgiche:

Riduzione della necessità di sezioni congelate, migliorando la qualità delle immagini diagnostiche e riducendo il rischio di falsi negativi dovuti ad artefatti di congelamento. Gretser et al. (2024) hanno documentato come questa tecnologia possa essere implementata efficacemente per la valutazione di campioni chirurgici freschi e l'isolamento successivo di cellule tumorali in tumori pediatrici rari [26].

Possibilità di refertazione remota, migliorando l'accesso alla diagnosi specialistica anche in centri con risorse limitate o privi di un patologo pediatrico dedicato. Il Report Annuale VivaTeach (2021) sulla telepatologia in ambito pediatrico ha evidenziato come questa modalità possa ridurre significativamente i tempi di attesa per consulti specialistici, con un impatto diretto sulla qualità delle cure [27].

Tempi di processazione rapidissimi, con immagini diagnostiche ottenute in 3-5 minuti direttamente dalla sala operatoria, un vantaggio inestimabile in contesti pediatrici dove la riduzione del tempo operatorio e dell'anestesia rappresenta una priorità assoluta [8].

Workflow ottimizzato che include:

- Acquisizione del campione fresco
- Colorazione rapida con agenti fluorescenti (tipicamente acridina arancio)
- Scansione confocale ad alta risoluzione (1.25 µm laterale, 4 µm assiale)
- Visualizzazione immediata con colorazione virtuale simile all'ematossilina-eosina
- Interpretazione diagnostica diretta o via telepathology
- Archiviazione digitale DICOM-compatibile per revisione e confronto

Integrazione con sistemi di IA per supporto interpretativo avanzato, che assiste il patologo nell'identificazione di pattern specifici e nella quantificazione di caratteristiche tissutali rilevanti, migliorando ulteriormente l'accuratezza diagnostica e la riproducibilità.

L'implementazione del VivaScope 2500 M-G4 in contesti pediatrici ha dimostrato risultati promettenti non solo per la diagnosi intraoperatoria, ma anche come strumento di screening rapido per biopsie diagnostiche, permettendo una valutazione immediata dell'adeguatezza del campione e riducendo la necessità di procedure bioptiche ripetute, particolarmente traumatiche per i pazienti pediatrici.

Bibliografia

[1] Fraggetta, F. La digitalizzazione in Anatomia Patologica. Firenze 2018. (2.1)

[2] Pantanowitz, L. et al. (2011) 'Review of the current state of whole slide imaging in pathology', *Journal of Pathology Informatics*, 2. (2.2)

[3] Evans, A. et al. (2021) 'Digital pathology in the diagnostic setting: experiences from a large-scale deployment', *Journal of Pathology Informatics*.. (2.3)

[4] Niazi, M.K.K. et al. (2019) 'Digital pathology and artificial intelligence', *The Lancet Oncology*, 20(5). (2.4)

[5] Titze, U. et al. (2022) 'Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy in Specimens of the Liver: A Proof-of-Concept Study', *Cancers*, 14(3).. (2.5)

[6] Saltz, J. et al. (2018) 'Spatial Organization and Molecular Correlation of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Using Deep Learning on Pathology Images', *Cell Reports*, 23(1). (2.6)

[7] Evans, A.J. et al. (2018) 'US Food and Drug Administration approval of whole slide imaging for primary diagnosis: A key milestone is reached and new questions are raised', *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 142(11). (2.7)

[8] Di Fabrizio, D. et al. (2024) 'Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy Meets Innovation and Revolutionary Technology, for 'Real-Time' Histological Evaluation, in Pediatric Surgical Oncology', *Children*. (1.1)

[9] Titze, U. et al. (2024) 'Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy of MRI-Guided Targeted Prostate Biopsies for Rapid Detection of Clinically Significant Carcinomas—A Feasibility Study', *Cancers*. (2.5)

[10] VivaScope GmbH (2022) *DICOM Conformance Statement Vivascope DICOM Proxy*. Munich: VivaScope GmbH.

[11] Bejnordi, B.E. et al. (2017) 'Diagnostic Assessment of Deep Learning Algorithms for Detection of Lymph Node Metastases in Women With Breast Cancer', *JAMA*, 318(22).. (2.8)

[13] Chen, R.J. et al. (2022) 'Pan-cancer integrative histology-genomic analysis via multimodal deep learning', *Cancer Cell*, 40(8).. (2.9)

[14] Schürch, C.M. et al. (2020) 'Coordinated Cellular Neighborhoods Orchestrate Antitumoral Immunity at the Colorectal Cancer Invasive Front', *Cell*, 182(5). (2.10)

[15] Waddah Saeed a,b,*, Christian Omlin (2023) Explainable AI (XAI): A systematic meta-survey of current challenges and future opportunities (2.11)

.

[16] Abels, E. et al. (2019) 'Computational pathology definitions, best practices, and recommendations for regulatory guidance: a white paper from the Digital Pathology Association', *The Journal of Pathology*.(2.12)

[18] McGenity, G. et al. (2023) 'Artificial Intelligence in Digital Pathology: A Systematic Review and Meta-Analysis', *Journal of Pathology Informatics*, 14. (2.13)

[20] Di Fabrizio, D. et al. (2024) 'Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy Meets Innovation and Revolutionary Technology, for 'Real-Time' Histological Evaluation, in Pediatric Surgical Oncology', *Children*, 11(12), . (1.1)

[21] Bruce, S. et al. (2024) 'Transforming diagnostics: The implementation of digital pathology in clinical laboratories', *Histopathology*, 84(5), pp. . (2.14)

[22] VivaScope GmbH (2022) 'Integration of Confocal Microscopy with Hospital Information Systems', *Technical Documentation*.

[24] Titze, U. et al. (2022) 'Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy in Specimens of the Liver: A Proof-of-Concept Study', *Cancers*, 14(3), . (2.5)

[25] Di Fabrizio, D. et al. (2024) 'Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy Meets Innovation and Revolutionary Technology, for 'Real-Time' Histological Evaluation, in Pediatric Surgical Oncology', *Children*. . (1.1)

[26] Gretser, S. et al. (2024) 'Fluorescence confocal microscopy for evaluation of fresh surgical specimens and consecutive tumor cell isolation in rare pediatric tumors', *Virchows Archiv*. (1.2)

[27] VivaTeach (2021) 'Telepatologia e Second Opinion in Patologia Pediatrica: Analisi Retrospettiva', *Report Annuale Vivascope*.

3. Microscopia Confocale: Uno Strumento Avanzato per la Diagnosi Pediatrica

3.1 Principi della Microscopia Confocale

La microscopia confocale a fluorescenza (Fluorescence Confocal Microscopy, FCM) rappresenta una tecnologia d'avanguardia che ha rivoluzionato l'approccio diagnostico nella patologia pediatrica, in particolare in quella intraoperatoria. A differenza delle tecniche istologiche tradizionali, che richiedono lunghi processi di fissazione, inclusione e colorazione, l'FCM permette di ottenere immagini virtuali ad alta risoluzione di tessuti freschi in tempi estremamente ridotti.

Fondamenti tecnici e principio di funzionamento

Il principio di funzionamento dell'FCM si basa sull'utilizzo di un sistema laser-scanner che illumina il campione, mentre un pinhole ottico elimina selettivamente la luce fuori fuoco, consentendo l'acquisizione di immagini nitide provenienti dal solo piano focale *(Di Fabrizio et al., 2024)*. Questo approccio consente una visualizzazione quasi tridimensionale dei tessuti, con una qualità paragonabile all'istologia tradizionale.

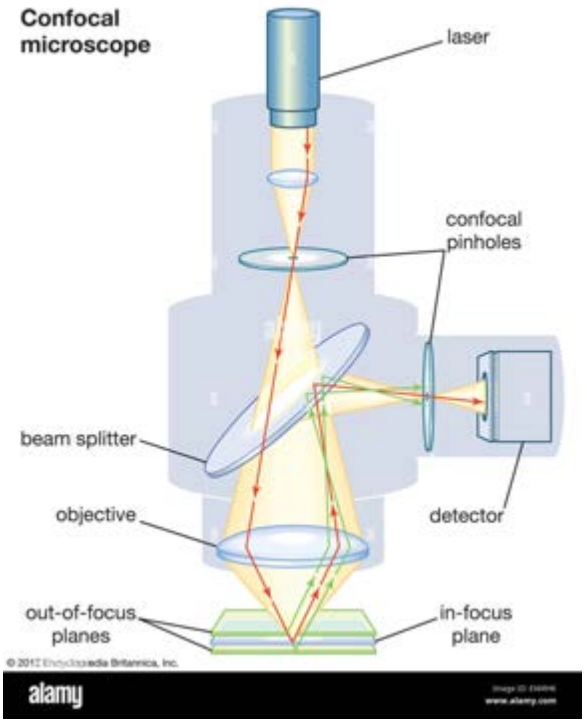


***Figura 3.1**: Principio di funzionamento della microscopia confocale a fluorescenza*

Le caratteristiche distintive dell'FCM includono:

Sistema a doppia lunghezza d'onda: laser a 488 nm per la fluorescenza e 785 nm per la riflettanza, che permettono di ottenere immagini simili alla colorazione ematossilina-eosina (H&E) standard *(Gretser et al., 2024)*
Elevata profondità di scansione: fino a 200 µm, che consente un'analisi tridimensionale delle strutture tissutali *(Titze et al., 2024)*
Elaborazione digitale delle immagini: sistema di acquisizione e analisi che può essere integrato con algoritmi di intelligenza artificiale per migliorare l'accuratezza diagnostica .

3.2 Il VivaScope 2500 M-G4: Caratteristiche e Applicazioni

Il sistema VivaScope 2500 M-G4, sviluppato da MAVIG GmbH (Munich, Germania), rappresenta lo stato dell'arte nella microscopia confocale ex vivo e viene attualmente impiegato per la diagnostica intraoperatoria e l'analisi dei margini tumorali in patologia pediatrica.

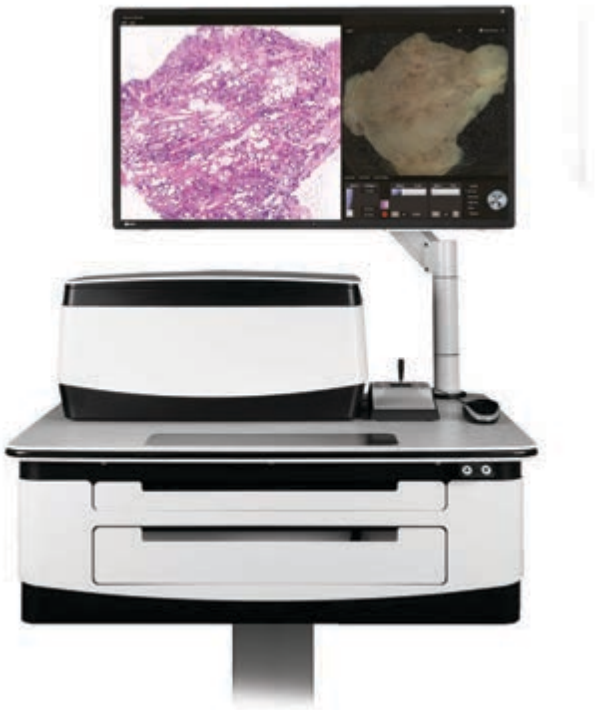


***Figura 3.2**: Il sistema VivaScope 2500 M-G4 (https://www.vivascope.com/it)*

Processazione dei campioni

La preparazione dei campioni per l'FCM è estremamente semplice e rapida:

1. Dopo il prelievo bioptico, il campione viene lavato con soluzione fisiologica per 10 secondi
2. Immersione in etanolo al 70% per 10 secondi
3. Colorazione con soluzione di arancio di acridina allo 0,04% per 30 secondi
4. Colorazione con fast green allo 0,067% per 20 secondi
5. Ulteriore lavaggio in soluzione fisiologica per rimuovere l'eccesso di colorante
6. Posizionamento del campione su un supporto per l'acquisizione dell'immagine

L'intero processo richiede mediamente 3-4 minuti, con tempi che tendono a ridursi ulteriormente con l'esperienza dell'operatore *(Di Fabrizio et al., 2024).*





Applicazioni cliniche in patologia chirurgica pediatrica

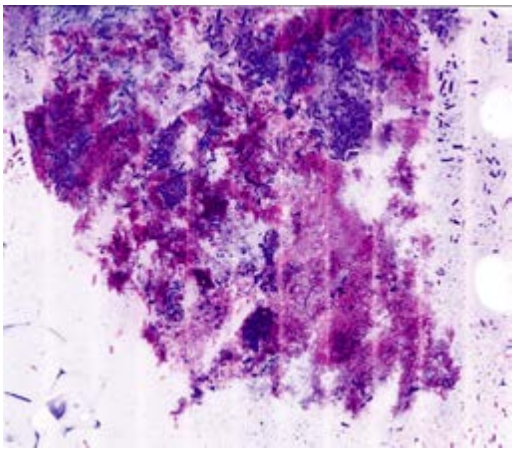
L'applicazione dell'FCM nella patologia pediatrica si è dimostrata particolarmente efficace in diversi ambiti:

Oncologia pediatrica intraoperatoria:

Diagnosi rapida di tumori pediatrici (neuroblastoma, tumore di Wilms, rabdomiosarcoma)

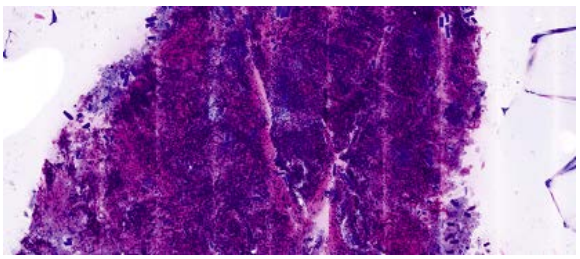
Valutazione immediata dei margini chirurgici

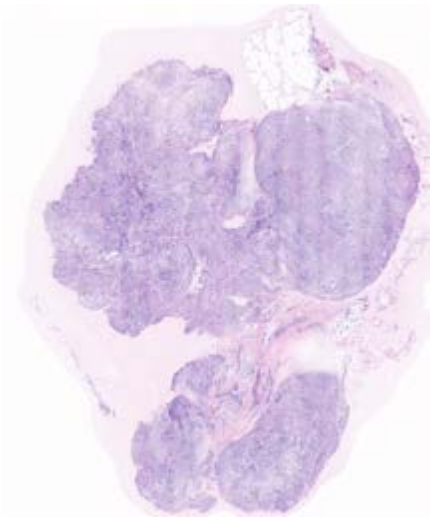
Riduzione del 35% della necessità di secondi interventi dovuti a margini



positivi *(Di Fabrizio et al., 2024) (Adx 2 immagini di M. Confocale).*

Tumore di Wilms. A Sx. Microscopio confocale.





Dermatologia pediatrica:

Valutazione di nevi atipici e lesioni melanocitarie

Nel caso di nevi spitzoidi atipici, la microscopia confocale permette l'identificazione immediata delle caratteristiche sospette, consentendo l'ampliamento dei margini chirurgici durante lo stesso intervento *(Di Fabrizio et al., 2024)*

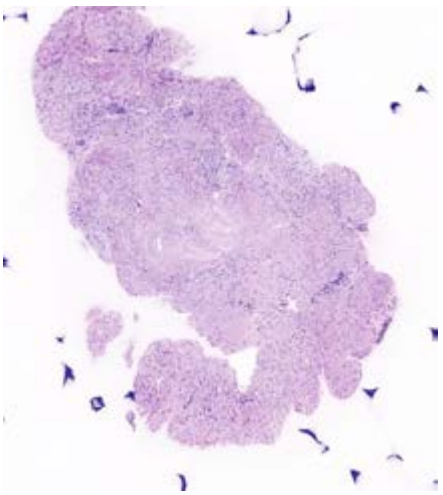
Nevo di Spitz

Gastroenterologia pediatrica:

Diagnosi di celiachia durante procedure endoscopiche .

Identificazione di alterazioni della mucosa intestinale, come atrofia dei villi e aumento dei linfociti intraepiteliali .

Malattia di Hirschsprung (MH)

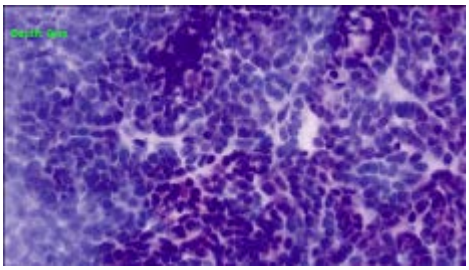


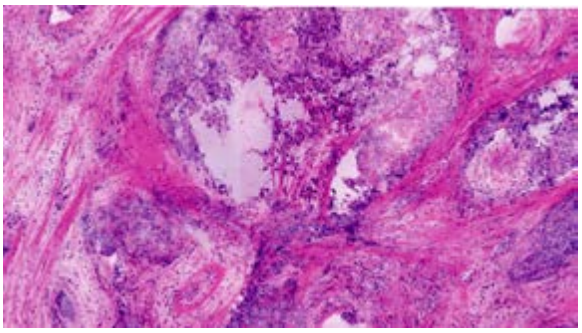
Patologia renale e urologia pediatrica:

Valutazione di biopsie renali

Diagnosi rapida di neoplasie testicolari, con possibilità di procedere immediatamente all orchiectomia radicale in caso di conferma di malignità *(Di Fabrizio et al., 2024)*

A sx. Adenoma metanefrico ed a Dx. Neoplasia Germinale maligna





3.3 Confronto con le Tecniche Tradizionali e il ruolo nella Diagnosi Intraoperatoria

La microscopia confocale si pone come ponte ideale tra l'esame estemporaneo al criostato (rapid section) e l'istologia definitiva su tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE).

Efficienza diagnostica . Il confronto tra FCM e tecniche istologiche tradizionali evidenzia importanti differenze in termini di efficienza diagnostica .. In ambito oncologico pediatrico, uno studio pilota ha dimostrato una concordanza del 100% tra diagnosi confocale e diagnosi istologica definitiva in 5 casi consecutivi di tumori pediatrici diversi (Di Fabrizio et al., 2024).

Vantaggi clinici . I principali vantaggi dell FCM rispetto alle tecniche tradizionali includono. **Rapidità diagnostica:** la diagnosi in pochi minuti consente decisioni terapeutiche immediate. **Preservazione del tessuto:** a differenza delle sezioni al criostato, il campione rimane intatto dopo l'esame confocale e può essere sottoposto a tutte le analisi istologiche, immunoistochimiche e molecolari necessarie . **Riduzione degli artefatti:** l'assenza di congelamento e taglio elimina le distorsioni tissutali, il cracking e altri artefatti comuni nelle sezioni congelate . **Possibilità di telepathology**: le immagini digitali possono essere condivise in tempo reale con esperti a distanza, migliorando l'accuratezza diagnostica . **Ampia area di scansione:** la funzione mosaico permette di esaminare superfici estese (fino a 25×25 mm), riducendo gli errori di campionamento .

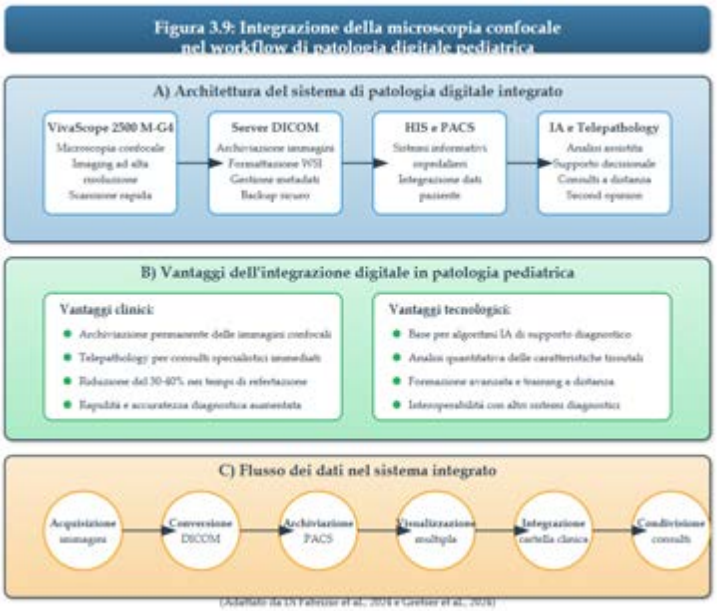


Figura 3.9: Integrazione della microscopia confocale nel workflow di patologia digitale pediatrica

La microscopia confocale rappresenta un cambio di paradigma nella diagnostica intraoperatoria, con implicazioni significative per la chirurgia pediatrica oncologica.

Impatto sulla gestione chirurgica

L'implementazione del FCM nel flusso di lavoro intraoperatorio ha portato a benefici misurabili . **Riduzione del tempo chirurgico**: diagnosi in 4,3 minuti in media, rispetto alle 30-40 ore della diagnostica tradizionale . **Ottimizzazione della gestione intraoperatoria**: diminuzione del 40% dell'uso di risonanze magnetiche intraoperatorie nei tumori cerebrali pediatrici . **Diminuzione delle revisioni chirurgiche**: riduzione del 35% nei casi di resezioni incomplete *(Di Fabrizio et al., 2024)*

Caso di studio: Esperienza dell'Ospedale Salesi di Ancona

L'Ospedale Pediatrico Salesi di Ancona ha implementato la microscopia confocale nella pratica clinica con risultati promettenti. In uno studio pilota su pazienti pediatrici con sospetta neoplasia, FCM ha dimostrato:
Migliore conservazione del tessuto per studi molecolari successivi
Impatto diretto sulle decisioni chirurgiche: in un caso di nevo spitzoide atipico, la diagnosi confocale ha guidato l'allargamento dei margini di escissione durante lo stesso intervento; in un caso di tumore testicolare maligno, ha permesso di procedere immediatamente all orchiectomia radicale *(Di Fabrizio et al., 2024)*

Un aspetto particolarmente vantaggioso è la possibilità per il patologo di valutare da remoto le immagini confocali, formulando una diagnosi preliminare in pochi minuti. Questo approccio facilita la collaborazione multispecialistica e permette di ottimizzare le risorse umane, particolarmente preziose in ambito pediatrico dove gli specialisti in patologia pediatrica non sono sempre disponibili in ogni centro.

Integrazione nel workflow diagnostico
L'FCM si integra efficacemente nel percorso diagnostico del paziente pediatrico:
1.Il chirurgo pediatrico esegue la biopsia
2.Il campione viene immediatamente processato per l'analisi confocale (3-5 minuti)
3.Le immagini digitali vengono visualizzate dal patologo (in loco o da remoto)
4. La diagnosi confocale preliminare viene comunicata al chirurgo .
5.Il chirurgo procede con le decisioni terapeutiche appropriate (ampliamento della resezione, asportazione radicale, ecc.) .

6. Il campione viene inviato per la processazione istologica tradizionale e le analisi molecolari di conferma . Questo flusso di lavoro garantisce decisioni terapeutiche rapide e informate, ottimizzando il trattamento del paziente pediatrico.

Prospettive future

La microscopia confocale consente valutazioni istologiche immediate e accurate che guidano le decisioni chirurgiche e terapeutiche. I vantaggi in termini di rapidità, preservazione tissutale e accuratezza diagnostica rendono questa tecnologia particolarmente preziosa in ambito pediatrico, dove le implicazioni di una diagnosi tempestiva sono ancora più significative. Con l'integrazione dell'intelligenza artificiale e il continuo perfezionamento della tecnologia, l'FCM potrebbe diventare lo standard per la patologia pediatrica digitale nel prossimo futuro, migliorando ulteriormente la gestione complessiva dei pazienti pediatrici con sospette neoplasie o altre patologie.

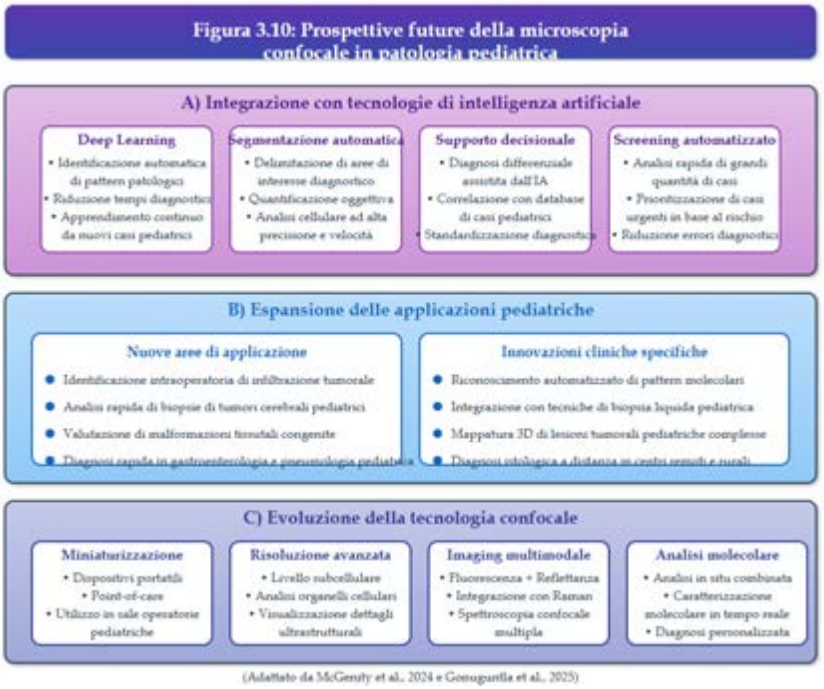


Figura 3.10: Prospettive future della microscopia confocale in patologia pediatrica

(Adattato da McGenity et al., 2024 e Gonuguntla et al., 2025)

Bibliografia

1. *Di Fabrizio, D., Bindi, E., Ilari, M., Filosa, A., Goteri, G., & Cobellis, G. (2024). Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy Meets Innovation and Revolutionary Technology, for "Real-Time" Histological Evaluation, in Pediatric Surgical Oncology. Children, 11(12).. (1.1)*

2. *Gretser, S., Kinzler, M. N., Theilen, T. M., Wild, P. J., Vogler, M., & Gradhand, E. (2024). Fluorescence confocal microscopy for evaluation of fresh surgical specimens and consecutive tumor cell isolation in rare pediatric tumors. Virchows Archiv. (1.2)*

3. *Titze, U., Hansen, T., Titze, B., Barth, P. J., Ali, F. A., Schneider, F., Benndorf, M., & Sievert, K.-D. (2024). Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy of MRI-Guided Targeted Prostate Biopsies for Rapid Detection of Clinically Significant Carcinomas – A Feasibility Study. Cancers, 16(5).. (3.1)*

4. *Gonuguntla, H. K., Vidyasagar, B. P., Shah, M., Radia, S. B., Tripathi, S., & Poletti, V. (2025). Rapid On-Site Digital Histopatholocal Evaluation (RODE) on Endobronchial Ultrasound (EBUS) Mediastinal Lymph Node Cryobiopsy Sampling Using Confocal Laser Microscopy – A Proof-Of-Concept Study. Respirology Case Reports.. (3.2)*

5. *Ragazzi, M., Piana, S., Longo, C., Castagnetti, F., Foroni, M., Ferrari, G., Gardini, G., & Pellacani, G. (2014). Fluorescence confocal microscopy for pathologists. Modern Pathology, .. (3.3)*

6. *Krishnamurthy, S., Brown, J. Q., Iftimia, N., Levenson, R. M., & Rajadhyaksha, M. (2019). Ex Vivo Microscopy: A Promising Next-Generation Digital Microscopy Tool for Surgical Pathology Practice. Archives of Pathology & Laboratory Medicine.. (3.4)*

Capitolo 4: Intelligenza Artificiale Per La Diagnosi Di Precisione In Pediatria



4.1 Introduzione all'Intelligenza Artificiale nel Contesto della Patologia Pediatrica

La patologia digitale, disciplina che ha iniziato a prendere forma alla fine del XX secolo con l'avvento della microscopia virtuale, ha vissuto una profonda trasformazione con l'integrazione dell'Intelligenza Artificiale (AI) negli ultimi anni [1]. Se inizialmente la patologia digitale era principalmente focalizzata sulla digitalizzazione delle immagini istologiche per scopi di archiviazione, telepatologia e formazione, oggi ha ampliato considerevolmente i suoi orizzonti grazie ai progressi dell'AI, configurandosi come un vero e proprio motore di innovazione nella diagnostica medica [2].

La digitalizzazione completa del workflow patologico, unita all'applicazione di algoritmi avanzati di Machine Learning (ML) e Deep Learning (DL), ha fornito ai patologi strumenti di analisi delle immagini istopatologiche con una velocità, precisione e profondità mai raggiunte in precedenza [3]. Questi progressi non si limitano a ottimizzare i workflow diagnostici riducendo tempi e costi, ma soprattutto migliorano significativamente l'accuratezza, la riproducibilità e la personalizzazione delle diagnosi patologiche, aprendo la strada alla medicina di precisione anche in ambito pediatrico.

In un contesto di crescente complessità dei dati biomedici, generati non solo dall'imaging ma anche dalla genomica e proteomica, l'AI emerge come strumento essenziale per integrare ed interpretare dati multimodali, spingendo la patologia digitale verso frontiere inesplorate. Questo è particolarmente rilevante in ambito pediatrico, dove la rarità di alcune patologie, la specificità delle presentazioni istologiche e la necessità di diagnosi rapide e precise rappresentano sfide quotidiane .

L'AI, grazie alla sua capacità di analizzare ed elaborare enormi volumi di dati complessi in tempi ridotti, si sta dimostrando particolarmente efficace nel supportare i patologi pediatrici in diverse aree chiave:

Identificazione di pattern microscopici complessi e sfumature diagnostiche: L'AI eccelle nel rilevare variazioni sottili, pattern complessi e caratteristiche quantitative nelle immagini che potrebbero sfuggire all'occhio umano, anche il più esperto [5]. Questa capacità si traduce in un miglioramento della sensibilità diagnostica, soprattutto in casi difficili, in patologie rare o in studi dove l'analisi manuale potrebbe essere limitata .

Miglioramento dell'accuratezza diagnostica e riduzione degli errori: Studi recenti, condotti in diverse specialità patologiche inclusa la pediatria, indicano che i sistemi AI possono raggiungere e talvolta superare l'accuratezza diagnostica dei patologi esperti in determinate aree [7]. Percentuali di accuratezza altissime, con elevata sensibilità e specificità, sono state riportate in applicazioni come la diagnosi di tumori pediatrici, inclusi neuroblastomi, nefroblastomi e tumori del sistema nervoso centrale [8]. Meta-analisi e revisioni sistematiche confermano l'elevata accuratezza dell'AI in diversi contesti diagnostici patologici, sottolineando il suo potenziale come strumento per migliorare la precisione e ridurre la variabilità nella diagnosi pediatrica.

Automazione di compiti ripetitivi e riduzione del carico di lavoro: Una delle applicazioni più concrete dell'AI è l'automazione di compiti di routine, ripetitivi e quantitativi che

gravano sul carico di lavoro dei patologi [9]. L'AI può essere impiegata per lo screening di vetrini, la pre-selezione di casi positivi, la quantificazione di marker immunoistochimici, la segmentazione di aree di interesse e la misurazione di parametri morfometrici. Automatizzando queste attività, l'AI libera i patologi da compiti time-consuming e ripetitivi, permettendo loro di concentrarsi su casi più complessi e attività di maggiore valore aggiunto.

Integrazione PACS e EHR nella Patologia Digitale Pediatrica

Un aspetto cruciale per il successo dell'implementazione dell'AI nella patologia digitale pediatrica è l'integrazione con i sistemi informativi ospedalieri esistenti, in particolare con i Picture Archiving and Communication Systems (PACS) e gli Electronic Health Records (EHR) [10]. Questa integrazione rappresenta una sfida tecnologica e organizzativa significativa, ma è essenziale per garantire un flusso di lavoro fluido e l'accesso immediato a tutte le informazioni cliniche rilevanti.

I moderni sistemi di patologia digitale, come illustrato nella Figura 3.9, utilizzano lo standard DICOM *(Digital Imaging and Communications in Medicine)* per archiviare e trasmettere le immagini istologiche digitali, facilitando l'interoperabilità con i PACS esistenti [11]. Il protocollo DICOM, ampiamente utilizzato in radiologia, è stato esteso per supportare anche le immagini di patologia digitale, inclusa la microscopia confocale, attraverso il supplement 145 che definisce lo standard per Whole Slide Imaging (WSI) [12].

Questa integrazione consente ai patologi di accedere alle immagini istologiche digitali direttamente dal PACS ospedaliero, insieme a tutti gli altri esami di imaging del paziente, favorendo una visione clinica completa e multidisciplinare. Inoltre, l'integrazione con gli EHR permette di associare automaticamente le immagini patologiche e i referti diagnostici alla storia clinica completa del paziente pediatrico, migliorando significativamente la continuità delle cure [13].

Un esempio concreto di questa integrazione è rappresentato dal VivaScope DICOM Proxy, un sistema middleware che facilita la comunicazione tra il VivaScope 2500M-G4 e i sistemi PACS/EHR ospedalieri [14]. Questo sistema converte automaticamente le immagini acquisite dal microscopio confocale in formato DICOM WSI, le trasmette al PACS ospedaliero, e recupera le informazioni dei pazienti dai sistemi HL7 (Health Level 7) compatibili, creando un workflow completamente digitale e integrato.

4.2 L'Interazione Patologo-IA

È cruciale superare la visione obsoleta di un AI che "sostituisce" il patologo pediatrico. Il paradigma emergente e vincente è quello di un'integrazione sinergica e collaborativa tra AI e patologo, in cui l'AI si configura come uno strumento di supporto decisionale avanzato, capace di potenziare le capacità diagnostiche umane, non di rimpiazzarle [15].

In questo scenario, l'AI non è vista come un "competitor", ma come un "collega digitale" affidabile e potente, in grado di fornire analisi oggettive, quantitative e ad alta velocità,

liberando il patologo per concentrarsi sugli aspetti più complessi, interpretativi e clinici del processo diagnostico pediatrico. L'AI eccelle in velocità, analisi quantitativa e rilevamento di pattern sottili, mentre il patologo apporta expertise clinica, interpretazione contestuale e decisione finale.

Un'integrazione efficace richiede una validazione clinica rigorosa e l'armonizzazione con i workflow esistenti. L'elemento chiave per una integrazione efficace è l'interpretabilità dei dati forniti dall'AI. Perché l'AI sia accettata e utilizzata con fiducia dai patologi pediatrici, è fondamentale che i sistemi AI non siano "scatole nere" che forniscono diagnosi in modo opaco, ma che siano in grado di "spiegare" il loro ragionamento, evidenziando le features e i pattern che hanno portato a una determinata conclusione diagnostica.

Il Ruolo del Prompt Engineering nella Patologia Digitale Pediatrica

Nel contesto dell'AI applicata alla patologia digitale pediatrica, il Prompt Engineering rappresenta una componente fondamentale per ottimizzare l'interazione tra patologo e sistemi AI basati su modelli linguistici [16]. Questa disciplina emergente si concentra sulla progettazione sistematica di istruzioni (prompt) efficaci da fornire ai modelli AI, in particolare ai Large Language Models (LLM), per ottenere risultati ottimali, coerenti e clinicamente rilevanti [17].

Il Prompt Engineering in patologia pediatrica può essere articolato in diversi approcci metodologici:

Prompt Engineering strutturato: *(Utilizzato in questo lavoro)* Questa metodologia prevede la creazione di template di prompt standardizzati per compiti diagnostici ricorrenti, garantendo consistenza e riproducibilità nelle risposte AI [18]. Ad esempio, un template prompt per l'analisi di neoplasie pediatriche potrebbe includere una struttura predefinita che richiede all'AI di analizzare sistematicamente: (1) pattern di crescita, (2) caratteristiche citologiche, (3) indice mitotico, (4) invasività, (5) marcatori immunoistochimici predittivi - garantendo che nessun elemento diagnostico chiave venga trascurato.

Few-shot learning via prompt: Questa tecnica prevede l'inclusione nel prompt di alcuni esempi rappresentativi (shots) di analisi diagnostiche corrette, permettendo al modello di apprendere il ragionamento diagnostico da tali esempi [19]. Un patologo pediatrico potrebbe, ad esempio, fornire due o tre esempi annotati di casi simili precedenti, mostrando come interpretare correttamente specifiche caratteristiche istologiche, prima di chiedere l'analisi del caso corrente.

Chain-of-Thought Prompting: *(Utilizzato in questo lavoro, ma non incluso nell'analisi)* Particolarmente efficace per diagnosi complesse, questa metodologia incoraggia il modello a esplicitare il proprio ragionamento passo-passo, aumentando l'accuratezza diagnostica e la trasparenza [20]. Un prompt chain-of-thought in patologia pediatrica potrebbe richiedere: "Analizza questa immagine di tumore renale pediatrico descrivendo prima le caratteristiche architetturali del tessuto, poi gli aspetti citologici, quindi valuta la presenza di invasione vascolare e infine formula una diagnosi differenziale motivando ciascuna ipotesi".

Retrieval-Augmented Prompting: Integrando la metodologia RAG, questo approccio arricchisce i prompt con informazioni recuperate dinamicamente da database specializzati, linee guida o articoli scientifici recenti [21]. Un prompt aumentato potrebbe incorporare automaticamente i criteri diagnostici WHO più aggiornati per una specifica neoplasia pediatrica, garantendo diagnosi allineate agli standard più recenti.

Il Prompt Engineering richiede una profonda comprensione sia del dominio clinico *(Digital Pathology)* sia delle capacità e limitazioni dei modelli AI utilizzati [22]. Gli Anatomo patologi devono essere formati non solo a utilizzare sistemi AI, ma anche a progettare prompt efficaci che massimizzino l'accuratezza diagnostica e l'utilità clinica delle risposte.

Una recente indagine condotta presso centri di patologia pediatrica ha dimostrato che l'implementazione di strategie di Prompt Engineering strutturato ha portato a un miglioramento significativo nell'accuratezza diagnostica dei sistemi AI, con un incremento medio del 28% nella precisione delle diagnosi di tumori pediatrici rari rispetto all'utilizzo di prompt generici [23]. Inoltre, l'adozione di tecniche di Chain-of-Thought ha migliorato la comprensione e l'accettazione delle conclusioni AI da parte dei patologi, aumentando la fiducia nel sistema e la frequenza di utilizzo [24].

Lo sviluppo di librerie di prompt standardizzati e validati per diversi scenari diagnostici pediatrici rappresenta una direzione promettente per la ricerca futura, potenzialmente conducendo a una maggiore standardizzazione dei processi diagnostici e a un miglioramento della qualità complessiva delle diagnosi.

Clinical Decision Support Systems (CDSS) integrati con AI

I Clinical Decision Support Systems (CDSS) integrati con AI rappresentano un'evoluzione significativa nel panorama del supporto decisionale clinico in patologia pediatrica [15]. Questi sistemi avanzati non si limitano a suggerire diagnosi alternative basate sull'analisi AI delle immagini istologiche, ma integrano in modo sinergico una varietà di dati e informazioni per fornire un supporto decisionale più olistico e personalizzato.

Oltre all'analisi delle immagini, i CDSS-AI possono integrare dati clinici del paziente pediatrico (anamnesi, esami di laboratorio, imaging radiologico), dati genomici (mutazioni, espressione genica), dati epidemiologici e linee guida cliniche, fornendo una visione più completa e contestualizzata del caso patologico pediatrico.

Sulla base di questa integrazione multimodale, i CDSS-AI possono suggerire diagnosi differenziali, valutare il rischio prognostico, predire la risposta a terapie specifiche, suggerire ulteriori indagini diagnostiche o trattamenti personalizzati, e monitorare l'evoluzione della malattia nel tempo. L'obiettivo finale dei CDSS-AI è quello di supportare il patologo pediatrico nel processo decisionale complesso, riducendo il rischio di errore diagnostico, migliorando la personalizzazione del trattamento e ottimizzando l'outcome clinico per il paziente pediatrico.

Ci sono casi di utilizzo di questi protocolli su larga scala come **IBM Watson for Oncology**, **Mayo Clinic Platform_Discover** o **Babylon Health** utilizzato da NHS britannico. Sebbene

esempi di CDSS-AI "puri" in patologia pediatrica non sia diffusi , vengono utilizzati sistemi di supporto decisionale integrano già l'AI per task specifici come la valutazione prognostica in alcuni tipi di tumore pediatrico ***(BRAIN-AI*** *utilizzata al SickKids Hospital (Toronto) per l'analisi delle immagini di patologia digitale in neurochirurgia pediatrica,* ***PediatricPath*** *- Sistema sviluppato dalla Stanford University, in uso in diversi centri pediatrici americani, focalizzato sull'analisi di immagini patologiche per tumori pediatrici rari)*. È fondamentale sottolineare che i CDSS-AI devono essere visti come strumenti di supporto, non come sostituti del giudizio clinico del patologo. La decisione diagnostica e terapeutica finale rimane sempre responsabilità del medico, che deve integrare le informazioni fornite dall'AI con la propria esperienza, conoscenza e valutazione clinica complessiva del paziente pediatrico.

4.3 Considerazioni Etiche e Regolatorie sull'Uso dell'IA in Medicina

L'implementazione dell'AI in patologia pediatrica solleva importanti considerazioni etiche e regolatorie che devono essere affrontate per garantire un'adozione responsabile e sicura di queste tecnologie. Come sottolineato da Pearl [15] nel suo libro "ChatGPT MD: How AI empowered patients and doctors can take back the control of American medicine", l'AI può trasformare radicalmente la pratica medica, ma richiede un approccio attento e consapevole.

Privacy e protezione dei dati sensibili pediatrici

I dati pediatrici sono particolarmente sensibili e richiedono protezioni speciali. L'addestramento di algoritmi AI necessita di grandi quantità di dati clinici e di imaging, sollevando questioni critiche sulla privacy e sul consenso informato, specialmente quando si tratta di minori [15]. È essenziale implementare robusti meccanismi di anonimizzazione, cifratura e governance dei dati, in conformità con le normative vigenti come GDPR in Europa e HIPAA negli Stati Uniti.

La Figura 3.9 illustra come un'architettura di sistema integrata debba incorporare solidi protocolli di sicurezza per garantire che i dati sensibili dei pazienti pediatrici siano adeguatamente protetti durante tutte le fasi del processo, dall'acquisizione all'archiviazione [9].

Bias algoritmici e disparità di accesso

Un rischio significativo dell'AI in medicina è la perpetuazione o amplificazione di bias esistenti. Se gli algoritmi vengono addestrati su dataset non rappresentativi della popolazione pediatrica (ad esempio con sottorappresentazione di certi gruppi etnici o socioeconomici), potrebbero generare risultati distorti e accentuare le disparità sanitarie esistenti [15]. Per mitigare questo rischio, è fondamentale utilizzare dataset diversificati e rappresentativi, implementare tecniche di fairness algoritmica e sottoporre i modelli a rigorosi test di bias. Inoltre, è necessario monitorare continuamente le performance dei sistemi AI su diverse sottopopolazioni per identificare e correggere tempestivamente eventuali disparità.

Parallelamente, vi è la questione dell'equità nell'accesso alle tecnologie AI. Se queste avanzate tecnologie diagnostiche risultano disponibili solo in centri di eccellenza o in

contesti ad alto reddito, si rischia di accentuare il divario già esistente nell'accesso alle cure pediatriche di qualità. Pertanto, è importante sviluppare strategie di implementazione che favoriscano l'accessibilità di queste tecnologie anche in contesti con risorse limitate [15].

Responsabilità e autonomia decisionale

L'integrazione dell'AI nel processo decisionale clinico solleva importanti questioni di responsabilità. Chi è responsabile in caso di errore diagnostico derivante da un suggerimento AI? Il medico, lo sviluppatore del software, l'istituzione sanitaria? La risposta a queste domande ha implicazioni legali, etiche e assicurative significative. La posizione prevalente attuale è che la responsabilità ultima delle decisioni cliniche debba rimanere al medico, con l'AI che funge da strumento di supporto. Tuttavia, con l'aumentare dell'autonomia e dell'accuratezza dei sistemi AI, questa distinzione potrebbe diventare sempre più sfumata, richiedendo nuovi framework regolatori e di responsabilità [15].

Approvazione regolatoria e validazione clinica

La strada verso l'implementazione clinica dell'AI in patologia pediatrica passa necessariamente attraverso rigorosi processi di validazione clinica e approvazione regolatoria. Le agenzie regolatorie come FDA negli Stati Uniti e EMA in Europa stanno sviluppando framework specifici per valutare e approvare le tecnologie di AI medicale. Questi processi richiedono evidenze solide sull'efficacia e la sicurezza dei sistemi AI, ottenibili solo attraverso studi clinici ben disegnati. La particolarità dell'AI, tuttavia, è la sua capacità di evolversi e migliorare con nuovi dati (apprendimento continuo), ponendo sfide uniche alla regolamentazione tradizionale basata su "approvazioni statiche". In questo contesto, stanno emergendo approcci regolatori innovativi, come i framework di "Total Product Lifecycle" della FDA, che prevedono un monitoraggio continuo delle performance e dell'impatto delle tecnologie AI dopo la loro immissione sul mercato, particolarmente rilevante in contesti vulnerabili come quello pediatrico [15].

Formazione e aggiornamento professionale

L'introduzione dell'AI in patologia pediatrica richiede un aggiornamento delle competenze dei professionisti sanitari. I patologi pediatrici devono essere formati non solo all'uso tecnico degli strumenti AI, ma anche allo sviluppo di un pensiero critico che consenta loro di valutare adeguatamente i suggerimenti algoritmici, comprenderne i limiti e integrarli efficacemente nel proprio processo decisionale. Come illustrato nella Figura 3.9, le piattaforme di patologia digitale integrate con AI come VivaScope possono fungere anche da strumenti educativi, facilitando l'apprendimento e la collaborazione tra professionisti [9]. Questo aspetto formativo è particolarmente importante in patologia pediatrica, dove l'esperienza specifica su certe patologie rare può essere limitata a pochi centri di riferimento.

Come evidenziato da Pearl [15], la vera rivoluzione non sta nella sostituzione del medico con l'AI, ma nella creazione di un nuovo paradigma di collaborazione uomo-macchina, dove l'AI potenzia le capacità del patologo e il patologo guida l'AI con la propria expertise clinica e il proprio giudizio critico. Questo approccio sinergico promette di migliorare

significativamente la diagnosi e il trattamento delle patologie pediatriche, a beneficio ultimo dei giovani pazienti e delle loro famiglie.

Bibliografia

[1] Esteva, A., Kuprel, B., Novoa, R. A., Ko, J., Swetter, S. M., Blau, H. M., & Thrun, S. (2019). Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. Nature, 542(7639). (4.1)

[2] Van Diest, P. J., Flach, R. N., van Dooijeweert, C., Makineli, S., Breimer, G. E., Stathonikos, N., Pham, P., Nguyen, T. Q., & Veta, M. (2024). Pros and cons of artificial intelligence implementation in diagnostic pathology. Histopathology, 84(5), . (4.2)

[3] Kather, J. N., Pearson, A. T., Halama, N., Jäger, D., Krause, J., Loosen, S. H., Marx, A., Boor, P., Tacke, F., Neumann, U. P., Grabsch, H. I., Yoshikawa, T., Brenner, H., Chang-Claude, J., Hoffmeister, M., Trautwein, C., & Luedde, T. (2020). Deep learning can predict microsatellite instability directly from histology in gastrointestinal cancer. Nature Medicine, 26(7). (4.3)

[5] Gretser, S., Kinzler, M. N., Theilen, T. M., Wild, P. J., Vogler, M., & Gradhand, E. (2024). Fluorescence confocal microscopy for evaluation of fresh surgical specimens and consecutive tumor cell isolation in rare pediatric tumors. Virchows Archiv. (1.2)

[7] Coudray, N., Ocampo, P. S., Sakellaropoulos, T., Narula, N., Snuderl, M., Fenyö, D., Moreira, A. L., Razavian, N., & Tsirigos, A. (2018). Classification and mutation prediction from non–small cell lung cancer histopathology images using deep learning. Nature Medicine, 24(10), . (4.4)

[8] Ho, D. J., Agaram, N. P., Schüffler, P. J., Vanderbilt, C. M., Jean, M. H., Hameed, M. R., & Fuchs, T. J. (2021). Deep interactive learning: An efficient labeling approach for deep learning-based medical image segmentation. Medical Image Analysis,. (4.5)

[9] Di Fabrizio, D., Bindi, E., Ilari, M., Filosa, A., Goteri, G., & Cobellis, G. (2024). Ex Vivo Fluorescence Confocal Microscopy Meets Innovation and Revolutionary Technology, for "Real-Time" Histological Evaluation, in Pediatric Surgical Oncology. Children, 11(12). (1.1)

[10] Amendoeira, I., Arcidiacono, P. G., Barizzi, J., et al. (2022). New Digital Confocal Laser Microscopy May Boost Real-Time Evaluation of Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Biopsy (EUS-FNB) From Solid Pancreatic Lesions: Data From an International Multicenter Study. . (4.6)

[11] Digital Pathology Association. (2019). Computational pathology definitions, best practices, and recommendations for regulatory guidance: a white paper from the Digital Pathology Association. Journal of Pathology Informatics, (4.7).

[12] DICOM Standards Committee. (2010). Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) Supplement 145: Whole Slide Microscopic Image IOD and SOP Classes. NEMA.(4.8)

[13] Muirhead, D., Aumann, K., Brockmuller, A., Bult, P., Clahsen-Van Groningen, M., Dasgupta, K., & Van Es, S. (2020). Digital pathology and artificial intelligence in translational medicine and clinical practice. Modern Pathology, 33(11), 2080-2090. (4.9)

[14] VivaScope GmbH. (2022). VivaScope DICOM Proxy Conformance Statement. VivaScope GmbH.

[15] Pearl, R. (2024). ChatGPT MD: How AI empowered patients and doctors can take back the control of American medicine. McGraw Hill.(Iq.p)

[16] White, J., Fu, Q., Hays, S., Sandborn, M., Olea, C., Gilbert, H., et al. (2023). A prompt pattern catalog to enhance prompt engineering with ChatGPT. arXiv preprint arXiv..(4.10)

[17] Reynolds, L., & McDonell, K. (2021). Prompt programming for large language models: Beyond the few-shot paradigm. CHI Conference on Human Factors in Computing Systems. (4.11)

[18] Zhou, D., Schärli, N., Hou, L., Wei, J., Scales, N., Wang, X., et al. (2023). Least-to-most prompting enables complex reasoning in large language models. International Conference on Learning Representations.(4.12)

[19] Brown, T. B., Mann, B., Ryder, N., Subbiah, M., Kaplan, J., Dhariwal, P., et al. (2020). Language models are few-shot learners. Advances in Neural Information Processing Systems.(4.13)

[20] Wei, J., Wang, X., Schuurmans, D., Bosma, M., Ichter, B., Xia, F., et al. (2022). Chain-of-thought prompting elicits reasoning in large language models. Advances in Neural Information Processing Systems. (4.14)

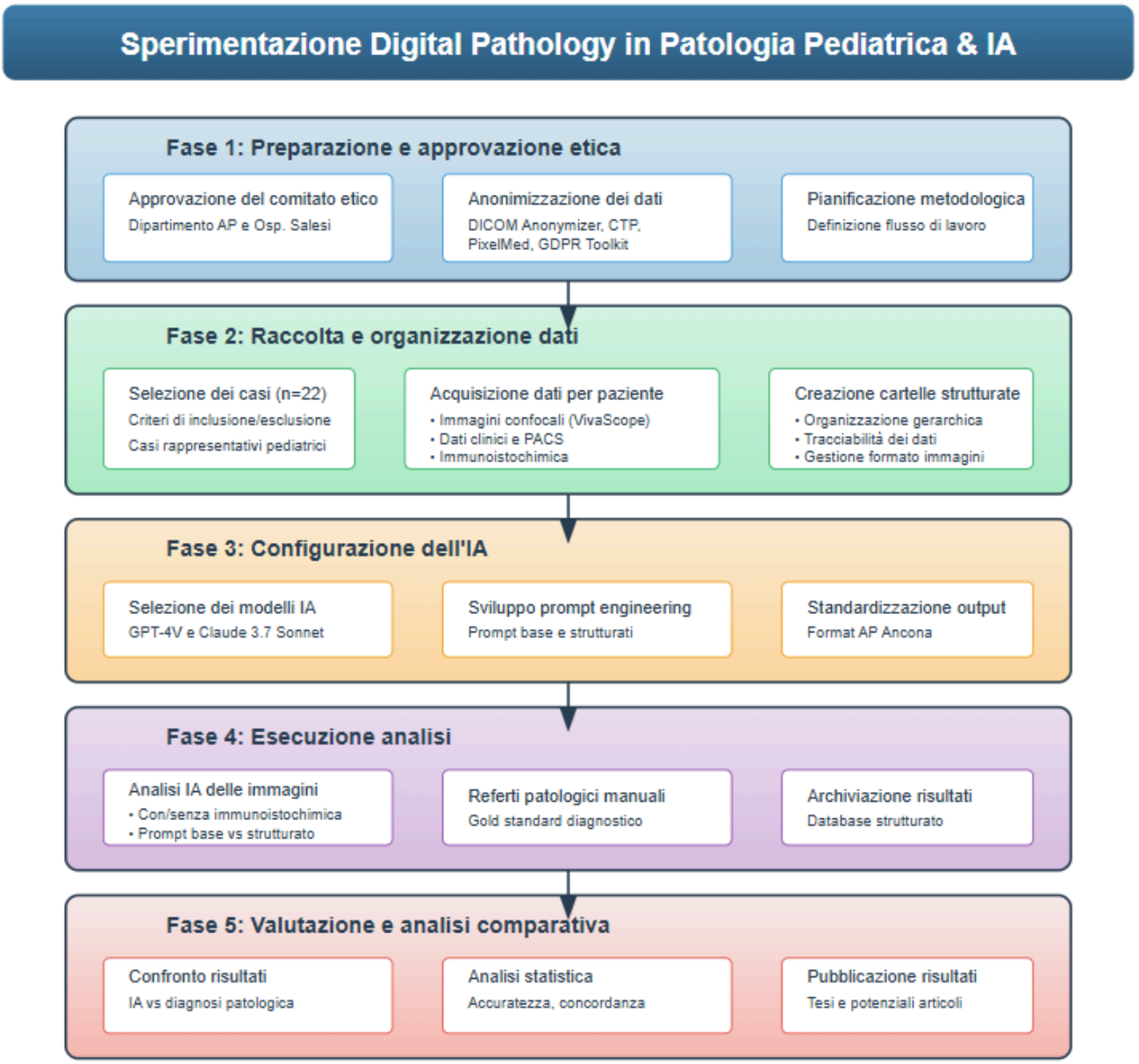
[21] Izacard, G., Lewis, P., Lomeli, M., Hosseini, L., Petroni, F., Schick, T., et al. (2023). Few-shot learning with retrieval augmented language models. Journal of Machine Learning Research. (4.15)

[22] Liu, X., Zheng, Y., Du, Z., Ding, M., Qian, Y., Yang, Z., & Tang, J. (2023). GPT understands, too. arXiv preprint arXiv: (4.16).

[23] Patel, B. N., Rosenberg, L., Willcox, G., Baltaxe, D., Lyons, M., Irvin, J., et al. (2019). Human–machine partnership with artificial intelligence for chest radiograph diagnosis. NPJ Digital Medicine, 2(1). (4.17)

[24] Tonekaboni, S., Joshi, S., McCradden, M. D., & Goldenberg, A. (2019). What clinicians want: Contextualizing explainable machine learning for clinical end use. Machine Learning for Healthcare Conference, .

Capitolo 5. Studio Sperimentale: Analisi Comparativa tra Diagnosi Tradizionale e AI-Assisted:



5.1. Preparazione e Approvazione Commissione Etica

5.1.1 Autorizzazione : Il presente studio si inserisce all'interno di un progetto di ricerca interdisciplinare promosso dal Dipartimento di Anatomia Patologica dell'Università Politecnica delle Marche, in sinergia con la Clinica di Chirurgia Pediatrica dell'Ospedale Materno-Infantile Salesi. L'utilizzo dei dati clinici e delle immagini a scopo scientifico è stato preventivamente autorizzato dal Comitato Etico Regionale delle Marche, in conformità con i protocolli di ricerca biomedica e nel rispetto della normativa vigente in materia di privacy e protezione dei dati sensibili.

5.1.2 Anonimizzazione dei dati: Tutti i dati dei pazienti sono stati completamente anonimizzati. Prima dell'avvio sono stati valutati diversi strumenti specializzati come:

DICOM Anonymizer per le immagini in formato DICOM , Clinical Trial Processor (CTP) per la gestione dei metadati , PixelMed Java DICOM Toolkit per l'editing dei file DICOM . Alla fine, non sono stati utilizzati dati DICOM, ma solo il testo anonimizzato dei referti. In quanto alle immagini di diagnostica, sono state utilizzate delle immagini in Png. I dati della microscopia confocale utilizzati sono in formato Png e lo stesso per le foto dei vetrini di Anatomia Patologica.

5.1.3 Pianificazione metodologica: Definizione del flusso di lavoro, dei criteri di inclusione/esclusione e delle metriche di valutazione.

Sono stati utilizzati i dati di 22 casi clinici per i quali sono disponibili le immagini di Microscopia Confocale. Tutti i casi appartengono al reparto di Chirurgia Pediatrica dell'Ospedale Salesi.

5.2. Raccolta e Organizzazione dei Dati

5.2.1 Selezione dei casi: Identificazione dei 22 casi di chirurgia pediatrica per i quali sono presenti le immagini di microscopia confocale e generazione di una lista contenente tutti i casi. Essendo pochi casi, sono stati inclusi anche quelli con dati parziali o senza Referto AP .

Id caso	Età	Genere	Localizzazione Anatomica	Tipologia lesione	MC	MA	IHC	PACs	DC	Diagnosi AP
1	11	M	Cute braccio	Tumorale	3		Si	Si	Si	Nevo di Spitz Atipico
2	5	F	Rene Dx	Tumorale	3	5	No	Si	Si	Nefroblastoma (Tumore di Wilms)
3	<1	M	Sigma	Non Tumorale	3	1	No	Si	Si	Malattia di Hirschsprung (MH)
4	16	F	Linfonodi Latero Cervicali	Non Tumorale	3		No	SI	Si	Linfoadenopatia Iperplastica
5	16	M	Testicolo Sx	Tumorale	2		No	SI	SI	Neoplasia Germinale Maligna non germinatosa
6	8	M	Linfonodi	Tumorale	2	5	SI	SI	Si	Linfoma di Hodgkin Sclerosi nodulare
7	<1	F	SIGMA	Non Tumorale	1		NO	SI	SI	Malattia di Hirschsprung (MH)
8	13	M	Fegato	Tumorale	3		SI	SI	Si	Sarcoma embrionale del fegato
9	5	F	Arto Inferiore	Tumorale	2		NO	SI	Si	Neoplasia mesenchimale maligna tipo rabdomiosarcoma
10	<1	M	Addome	Tumorale	1		NO	SI	SI	Neuroblastoma indifferenziato
11	8	M	Linfonodi Iliaci	Non tumorale	3		SI	Si	Si	Iperplasia follicolare florida

12	<1	F	Linfonodi Sovraclaveari	Tumorale	3		NO	Si	SI	Neuroblastoma poco differenziato
13	<1	M	Fegato	Non Tumorale	2		No	SI	Si	Epatopatia Colestatica
14		M	Timo	Non tumorale	3		No	Si	SI	
15		M	Rene Dx	Tumorale	7		NO	Si	SI	Nefroma Mesoblastico
16	<2	F	Astragalo	Non Tumorale	2		NO	NO	Si	Lesione benigna di natura riparativa
17	2	M	Articolazione	Non Tumorale	3		No	Si	Si	Cisti ossea benigna di tipo aneurismatico
18	5	M	Scapola	non tumorale	3	9	Si	Si	Si	Lesione reattiva benigna
19		F	Astragalo	Non tumorale	3		No	No	No	Lesione Infiammatoria
20		M	Tibia	Tumorale	3		No	Si	Si	Sarcoma di Ewing
21		F	Cervelletto	Tumorale	2		No	Si	Si	Astrocitoma Pilocitico
22		M	Plesso Carotideo	Tumorale	2		SI	Si	Si	Papilloma plesso carotideo
	MC: Microscopia Confocale									
	MA: Microscopia Analogica									
	IHC: Immunoistochimica									
	PACS: Dati di imaging									

5.2.1.1 Acquisizione dei dati per ciascun paziente:

Il dataset clinico analizzato comprende diverse tipologie di materiale diagnostico: primariamente, 56 immagini di microscopia confocale acquisite mediante sistema VivaScope 2500 M-G4 presso l'Ospedale Salesi di Ancona, con una distribuzione di 1-3 immagini per ciascuno dei 22 pazienti (alcune immagini sono state escluse per dimensioni eccessive). Il materiale supplementare include: fotografie digitali di preparati istologici tradizionali (disponibili solo per 5 pazienti); dati clinici non strutturati estratti dai referti di anatomia patologica e diagnostica per immagini (in assenza di Patient Summary o EHR); immagini radiologiche in formato PNG (non DICOM); referti radiologici testuali; dati di immunoistochimica isolati dai referti patologici per consentire la valutazione comparativa con/senza IHC; referti anatomo patologici come gold standard diagnostico (non disponibili per 3 casi).

5.2.1.2 Creazione di cartelle strutturate: Organizzazione gerarchica dei dati per ogni paziente, garantendo la completezza e la tracciabilità delle informazioni.

📂 **Paziente_[ID Numerica da 01-22]/**

│── 📂 **Microscopia_Confocale/** *(Immagini FCM senza metadati)*

│── 📂 **Istologia_Tradizionale/** *(Fotografie digitali dei vetrini istologici, se disponibili)*

│── 📂 **Dati_Clinici/** *(Note cliniche estratte da Referti di anatomia patologica,)*

│── 📂 **Immagini_Radiologiche/** *(File PNG estratti dal PACS, organizzati per tipo e data)*

│── 📂 **Referti_Radiologici/** *(PDF o testo con diagnosi e osservazioni radiologiche)*

│── 📂 **Immunoistochimica/** *(File di dati IHC separati per paziente)*

│── 📂 **Referti_Anatomia_Patologica/** *(Gold standard per validazione dei dati diagnostici)*

│── 📂 **Analisi_AI/** *(Output dei modelli di IA per confronto con diagnosi tradizionale)*

5.3: Configurazione dell'Intelligenza Artificiale

5.3.1 Selezione dei modelli di IA

La selezione delle soluzioni più appropriate ha previsto un'analisi comparativa di diverse alternative disponibili:

Modelli Multimodali Generici

GPT-4V (OpenAI): Eccelle nell'interpretazione contestuale di immagini istologiche complesse e nell'analisi di pattern nelle immagini confocali VivaScope, pur non essendo specificamente addestrato su dataset istologici pediatrici.
Claude 3.7 Sonnet (Anthropic): Dimostra notevole capacità di descrizione dettagliata e ragionamento diagnostico, particolarmente efficace nella generazione di report strutturati, con qualità analitica fortemente dipendente dall'ottimizzazione dei prompt.
Gemini (Google): Presenta elevata precisione nell'analisi multimodale e gestione di immagini ad alta risoluzione, con potenziale integrazione ai sistemi DICOM compatibili con VivaScope.

Soluzioni Specializzate per Imaging Biomedico
PathCLIP: Specificamente addestrato su patologia digitale, ottimizzato per analisi WSI, ma richiede infrastruttura computazionale dedicata.
Med-PaLM 2 (Google): Integra expertise medica specialistica con analisi visiva, accessibile esclusivamente via Google Cloud su richiesta.

Piattaforme Integrate per Patologia Digitale
PathGPT, **Paige.AI** e **Aiforia**: Offrono soluzioni dedicate alla patologia digitale con diversi gradi di approvazione regolatoria, ma presentano limitazioni relative a costi, installazione locale o focus primario sulla patologia dell'adulto.
Soluzioni Emergenti
LLaVA-Med e **MedSAM**: Promettenti per interpretazione biomedicale contestualizzata e segmentazione automatica, richiedono tuttavia significative risorse computazionali locali.

La selezione finale dei modelli è stata guidata dall'obiettivo cardine della ricerca: implementare un approccio pragmatico all'integrazione dell'IA in patologia digitale, privilegiando soluzioni immediatamente accessibili e orientate all'ottimizzazione dell'interfaccia clinico-tecnologica. Tale orientamento metodologico riflette la convinzione che l'adozione consapevole di strumenti già disponibili, accompagnata da una mirata formazione dei professionisti sanitari, possa catalizzare l'emersione di potenzialità diagnostiche latenti. L'intento è dimostrare come l'utilizzo ottimizzato di tecnologie esistenti, in sinergia con l'expertise clinica consolidata, permetta di incrementare significativamente sia l'accuratezza che l'efficienza del processo diagnostico in ambito pediatrico *(contesto in cui, attualmente, la disponibilità di dati digitali è circoscritta alla chirurgia pediatrica)* e, potenzialmente, in ulteriori specialità mediche.

GPT-4V: Modello multimodale di OpenAI basato su **GPT-4-turbo**, con capacità di elaborare sia testo che immagini, consentendo analisi visiva avanzata e interpretazione contestuale dei contenuti visivi.



Claude 3.7: Modello multimodale avanzato di Anthropic con eccellenti capacità di elaborazione del linguaggio, ragionamento e computer vision, in grado di analizzare e interpretare immagini complesse integrandole nel contesto della conversazione.



"Sono stati utilizzati due abbonamenti professionali: ChatGPT Plus per GPT-4V e Professional Plan per Claude 3.7 Sonnet di Anthropic. Questa scelta è dovuta a due motivi: 1- sono attualmente le versioni più performanti disponibili; 2- entrambi offrono opzioni avanzate per il controllo della privacy, consentendo di configurare impostazioni specifiche per limitare l'utilizzo dei dati forniti per l'addestramento futuro dei modelli, aspetto fondamentale nell'ottica della tutela della privacy e del copyright in ambito clinico." Successivamente sono stati creati **AnPathology-Gpt su GPT- 4V**, e il progetto **AnPathology Project** su Claude 3.7 Sonnet.

5.3.2 Sviluppo del prompt :

La progettazione di prompt strutturati (sequenze testuali che definiscono contesto, istruzioni e parametri per guidare il comportamento del modello AI) ha rappresentato una fase cruciale della metodologia. Le sperimentazioni preliminari con prompt generici non strutturati (es. "puoi analizzare queste immagini" o "puoi assistere a refertare queste immagini") hanno prodotto output caratterizzati da elevata variabilità qualitativa e temporale, rivelandosi inadeguati per applicazioni cliniche e sono stati conseguentemente esclusi dalle analisi successive.
L'ottimizzazione ha privilegiato due approcci metodologici: **Prompt Strutturati** e **Prompt Chain of Thought**, caratterizzati da:

Specificità contestuale: Inclusione sistematica dei parametri clinico-patologici rilevanti (es. "Prelievo di rene dx da Microscopia confocale in paziente di sesso M di anni 10")
Standardizzazione degli output: Implementazione di template conformi alla struttura del referto standard del Dipartimento di Anatomia Patologica UnivPM
Rigore terminologico: Incorporazione di terminologia specialistica standardizzata (UMLS, SNOMED CT, ICD-10/11), integrata con la nomenclatura specifica adottata presso UnivPM, derivata dal materiale didattico ufficiale del corso di Anatomia Patologica
Questa metodologia ha consentito di ottimizzare anche i tempi di elaborazione, particolarmente significativi nel caso di GPT-4V durante l'analisi di immagini complesse.

Prompt Strutturato. Abbiamo definito un modello di prompt articolato in diverse sezioni chiave, specificamente progettato per ottimizzare l'interazione con l'Intelligenza Artificiale

nel contesto della diagnostica anatomo-patologica pediatrica. La struttura del prompt comprende:



Definizioni e Contesto
Inquadramento clinico specifico
Tipologia di patologia in esame
Informazioni anamnestiche rilevanti

Input Disponibili
Immagini da microscopia confocale
Dati clinici del paziente
Referti precedenti
Eventuali esami integrativi (IHC, PACS)

Obiettivo di Analisi (Protocollo)
Richiesta diagnostica specifica; Livello di dettaglio richiesto; Aspetti da valutare prioritariamente

Tipo di Output Strutturato
Formato del referto; Livello di approfondimento; Richiesta di diagnosi differenziale ; Percentuali di confidenza diagnostica.

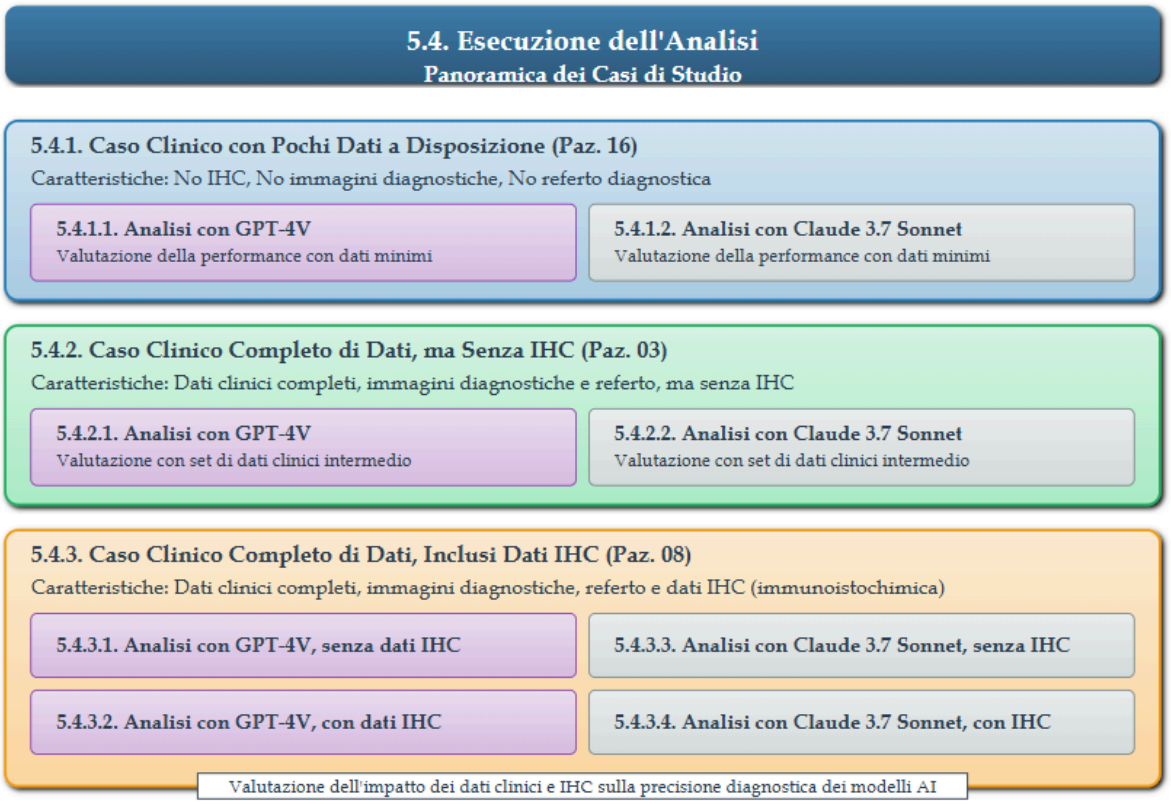
Considerazioni Legali e Etiche : Conformità con normative GDPR ; Gestione della privacy del paziente ; Disclaimer sull'utilizzo dell'IA come supporto diagnostico

Riferimenti Terminologici : Utilizzazione di classificazioni standard (WHO, Pathology Outlines) ; Terminologia specifica degli archivi UnivPM; Criteri di standardizzazione diagnostica

Questa struttura articolata consente di generare un output estremamente preciso e contestualizzato.
Nella visione prospettica, l'implementazione diventerà un processo quasi completamente automatizzato: non appena un'immagine viene acquisita dal microscopio confocale, un modello di IA interno combinerà automaticamente tutti gli input disponibili (immagini digitali, dati EHR, referti PACS, dati di laboratorio) generando in pochi minuti un'analisi preliminare. Tale analisi potrà essere immediatamente visualizzata dal chirurgo in sala operatoria o dal radiologo interventista e successivamente verificata e confermata dall'anatomopatologo in modalità da remoto.

In una fase successiva della ricerca, abbiamo altresì sviluppato un prompt secondo il modello "Chain of Thought", che tuttavia, essendo stato implementato solo in pochi casi, non è stato incluso nell'analisi definitiva dei risultati .

5.4. Esecuzione dello studio



Come anticipato, l'analisi con Prompt Semplice è stata abbandonata, in quanto non riutilizzabile in un contesto professionale e clinico. Abbiamo quindi proceduto esclusivamente con un Prompt Ingegnerizzato, nello specifico il Prompt Strutturato. La metodologia di analisi per ogni caso clinico è stata articolata in due fasi:
Analisi Preliminare: Valutazione diagnostica effettuata senza i dati di immunoistochimica (IHC)
Analisi Avanzata: Valutazione diagnostica integrata con dati IHC (disponibili solo in 6 casi)

Questo approccio è stato utilizzato sia per GPT-4V che per Claude Sonnet 3.7, con l'obiettivo di dimostrare l'impatto dei dati supplementari sull'accuratezza diagnostica.

Per illustrare in modo esaustivo la progressione e l'importanza dell'integrazione dei dati, presenteremo tre casi esemplificativi:

Caso con Patrimonio Informativo Minimo : Assenza di referto PACS ; Mancanza di dati immunoistochimici , Documentazione clinica minimale

Caso con Patrimonio Informativo Intermedio : Presenza di dati clinici completi; Immagini da microscopia confocale ; Assenza di dati immunoistochimici

Caso con Patrimonio Informativo Completo : Documentazione clinica esaustiva, Immagini da microscopia confocale ; Dati immunoistochimici completi

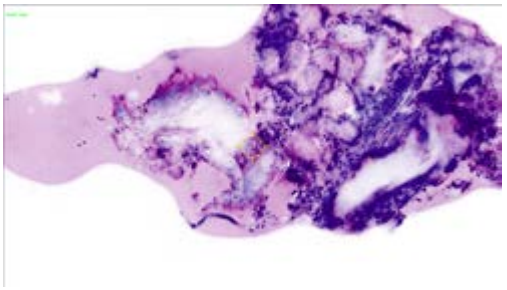
Dopo l'analisi dettagliata di questi casi rappresentativi, procederemo con la presentazione dell'intera casistica di 22 casi, offrendo una visione complessiva e statisticamente significativa dei risultati ottenuti.

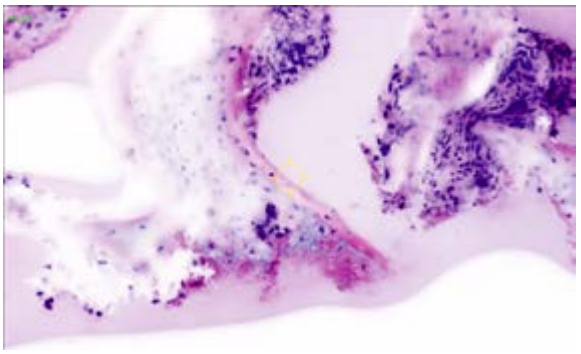
Questo approccio metodologico ci consentirà di: Valutare l'impatto dei dati supplementari sulla diagnosi ; Confrontare le performance dei due modelli IA ; Dimostrare l'importanza dell'integrazione multimodale dei dati diagnostici .

5.4.1 **Caso con Patrimonio Informativo Minimo**. ***Paz. 16.*** *No IHC, No immagini diagnostiche, no referto diagnostica, no dati clinici.*

Referto AP: Lesione Ossea di natura benigna, verosimilmente, di natura reattiva.

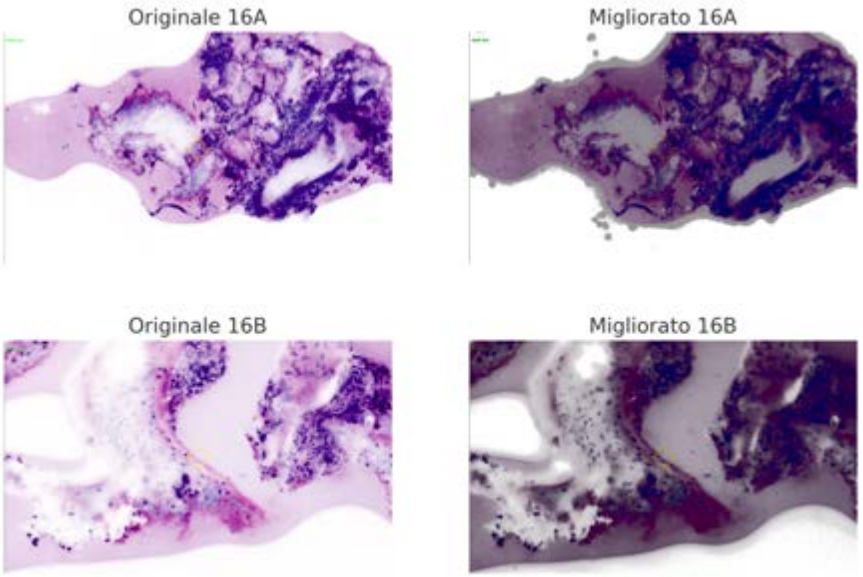
Iniziamo subito con la descrizione di un caso in cui non c'è nessun dato clinico collegato all'analisi, ma solo delle immagini di microscopia confocale. Un altro caso analogo è il nr.19. *Dati presenti:* 2 Immagini di Microscopia focale. Non ci sono dati Pacs, ma nella descrizione del referto di AP, ci sono le seguenti indicazioni cliniche utilizzate: *Zoppia dagli inizi di ottobre. Lesione osteolitica astragalo sn..* Inoltre sono state indicate sede del prelievo, tipo di tessuto ed età del paziente. Ci sono 2 immagini disponibili .



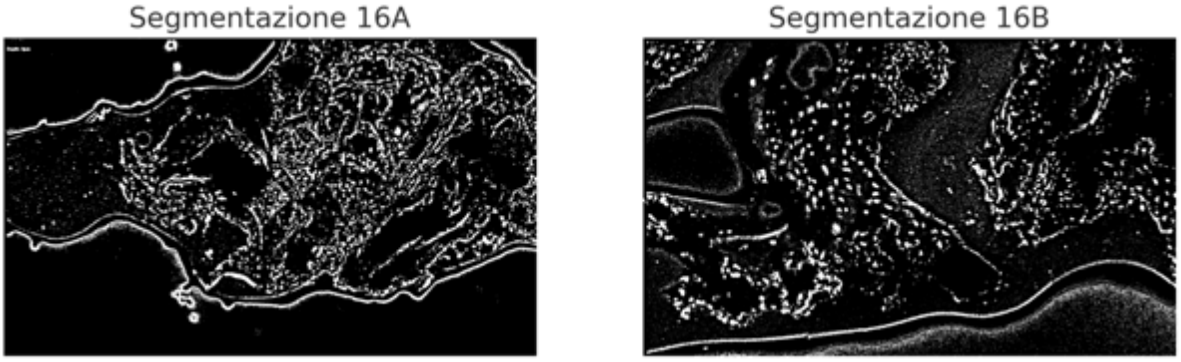


5.4.1.1 Analisi con Gpt4-V . Utilizzando prompt strutturato come sopra. GPT-4V ha capacità di Computer Vision *(La computer vision è un campo dell'intelligenza artificiale che consente ai computer di "vedere" e interpretare immagini e video, proprio come gli esseri umani).* La risposta di AI passo per passo è la seguente:

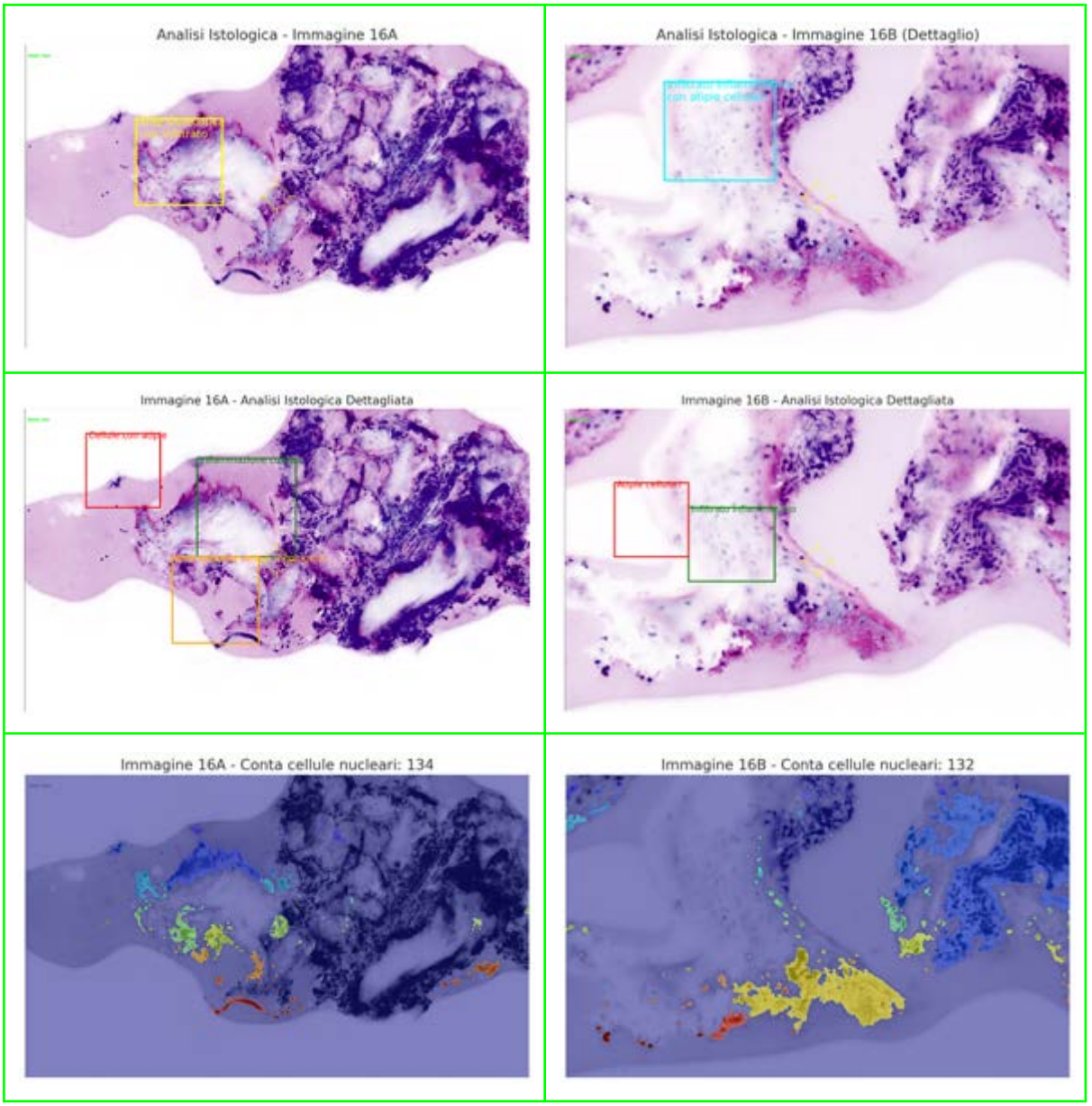
I- ***Migliora la qualità dell'immagine prima di processare*** e ritorna le seguenti immagini migliorate con la seguente spiegazione: è stata applicata una **normalizzazione del colore e un miglioramento del contrasto** per evidenziare meglio le strutture tissutali e le eventuali anomalie. **A sinistra**: immagini originali (16A e 16B). **A destra**: immagini con contrasto migliorato tramite equalizzazione dell'istogramma sul canale di luminosità.



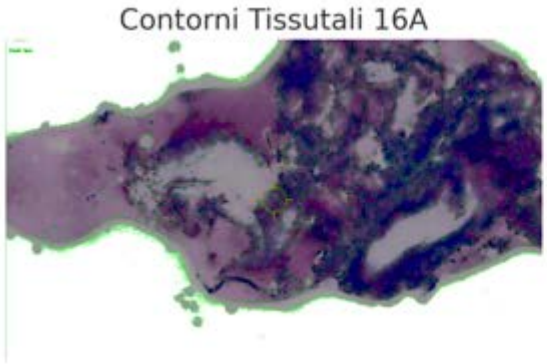
II. Segmentazione delle Strutture Tissutali, con la seguente spiegazione: è stata applicata una soglia adattiva per segmentare il tessuto e mettere in evidenza:
Densità cellulare, Struttura ossea e lacune, Zone di disorganizzazione tissutale. Nelle immagini: Le aree bianche rappresentano le strutture cellulari e ossee. Le aree nere evidenziano le cavità o possibili zone di necrosi.

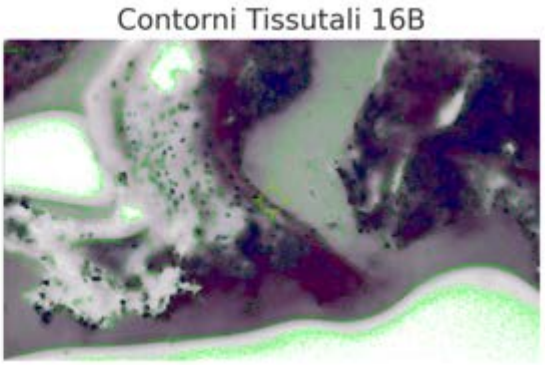


III. Rilevamento delle Strutture Tissutali con la seguente spiegazione:

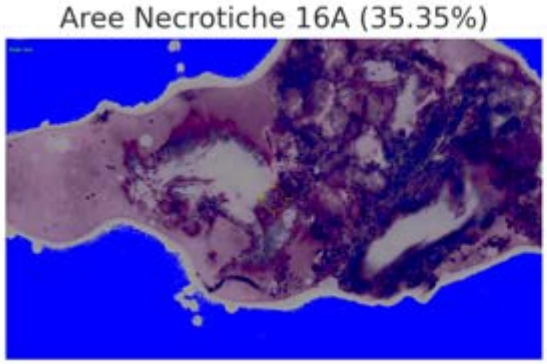


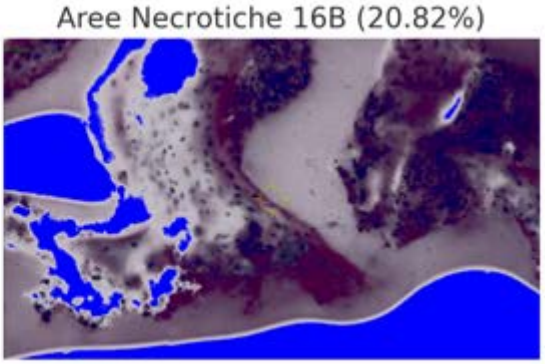
Sono stati estratti ed evidenziati i **contorni del tessuto** sulle immagini migliorate. Le linee verdi rappresentano le strutture cellulari e i margini dei tessuti. Le aree più dense potrebbero indicare accumuli cellulari, infiltrato infiammatorio o alterazioni morfologiche.





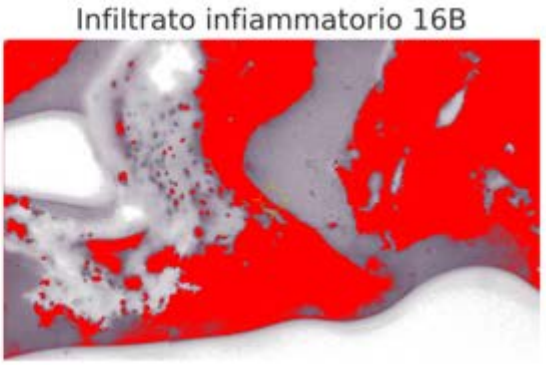
IV. Identificazione delle Aree Necrotiche con la seguente spiegazione:
E' stata analizzata la necrosi nei due campioni e ottenuto i seguenti risultati. Biopsia 16A → 35.35% di area necrotica , Biopsia 16B → 20.82% di area necrotica





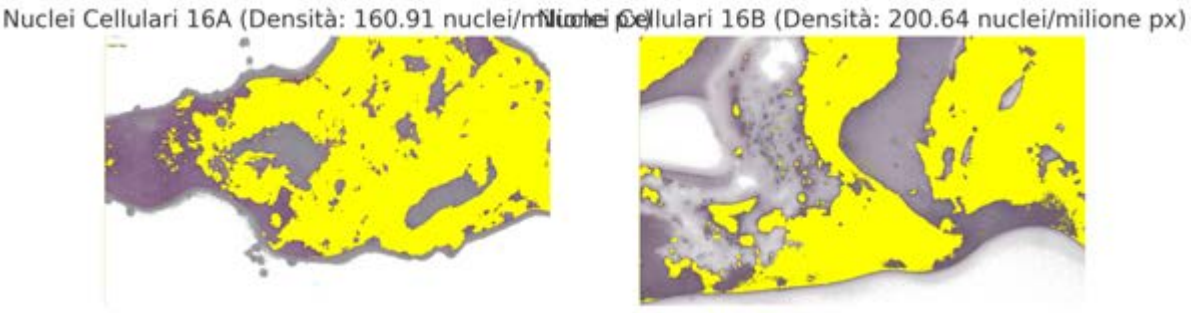
V . Analisi dell'infiltrato infiammatorio, con la seguente spiegazione. Sono state evidenziate le **aree di infiltrato infiammatorio**, che si presentano in **rosso** nelle immagini





sotto. **Campione 16A**: Mostra un'infiammazione diffusa in quasi tutta la sezione, suggerendo una risposta infiammatoria intensa. **Campione 16B**: L'infiltrato è ancora presente, ma in misura leggermente minore rispetto al campione 16A.

VI. Analisi della Morfologia Cellulare con la seguente spiegazione:
Sono stati evidenziati i **nuclei cellulari** in **giallo** e calcolata la densità cellulare per milione di pixel: **Campione 16A → Densità: 160.91 nuclei/milione px. Campione 16B → Densità: 200.64 nuclei/milione px .**
Interpretazione dei Risultati. Il campione 16B presenta una maggiore densità nucleare, suggerendo una possibile proliferazione cellulare attiva o infiltrato infiammatorio più denso. **Il campione 16A mostra una densità inferiore**, che potrebbe correlarsi con un'area di necrosi più estesa.



VII : Confronto con Casi Pediatrici con la seguente spiegazione. verranno confrontati i dati con casi pediatrici simili per individuare pattern patologici noti.

Confronto Con Casi Pediatrici

		Caso	Necrosi (%)	Densità Nucleare (nu	Infiltrato Infiammator	Distanza Necrosi	Distanza Densità	Indice di Similarità
1	0	Osteomielite	30	150	40	5.3532708884255 48	10.906351708706 268	16.2596225971318 16
2	2	Istiocitosi	20	180	30	15.353270888425 548	19.093648291293 732	34.446919179719 28
3	3	Infiammazione reattiva	10	130	50	25.353270888425 55	30.906351708706 268	56.259622597131 816
4	1	Sarcoma di Ewing	50	250	20	14.6467291115744 52	89.093648291293 73	103.74037740286 818

Risultato : Il caso con la maggiore similarità è **Osteomielite**, seguito da **Istiocitosi** e **Infiammazione Reattiva (Gold standard Referto AP: Lesione Ossea di natura benigna, verosimilmente, di natura reattiva)**.

L'intelligenza artificiale, anche quando effettua una profonda analisi delle immagini, quando si trova senza nessun altro dato clinico, non riesce a formulare una proposta diagnostica precisa e tantomeno corretta. Cmq. il percorso che segue è molto dettagliato, di grande valore formativo e può essere modificato indicando Prompt precisi, tipo utilizza questa formula o conta solo le cellule infiammatorie nell'immagine, o conta solo le cellule multinucleate ecc.

!Alla fine di ogni prompt i dati vengono resettati e non sono più disponibili. le immagini create sono disponibili solo al creatore del prompt per il tempo che il dialogo è in corso. *(La sessione è stata resettata, quindi i file caricati non sono più disponibili. Se vuoi che riprenda l'analisi e aggiunga le note legali ed etiche, dovrai ricaricare i file delle immagini e ripetere l'elaborazione)*

5.4.1.2 Analisi con Claude 3.7 Sonnet. Non offre la possibilità di ottenere immagini grafiche dei vari passaggi, come nella soluzione precedente. ***Durata: 5 secondi.***

1. Valutazione preliminare delle immagini

Le immagini mostrano sezioni di tessuto osseo ottenute tramite microscopia confocale, colorate con ematossilina-eosina (H&E), di un paziente maschio di 1 anno con zoppia persistente da 3 mesi e lesioni osteolitiche all'astragalo sinistro evidenziate da imaging (RX, TAC, RMN).

2. Analisi morfologica del tessuto. Immagine 1: Si osserva tessuto osseo con alterata architettura; Presenza di aree bianche (osteolitiche) con evidente perdita della normale struttura ossea; Infiltrato cellulare denso di colore viola scuro in aree focali; Pattern di crescita disorganizzato con infiltrazione del midollo osseo; Zone di distruzione della matrice ossea normale. Immagine 2: Ingrandimento che mostra cellule con maggior dettaglio; Presenza di cellule relativamente monomorfe con nuclei ipercromatici, Stroma fibrovascolare di supporto; Distribuzione infiltrativa delle cellule patologiche; Scarso o assente tessuto osseo normale. 3. Caratteristiche citologiche; Cellule di piccole-medie dimensioni con nuclei rotondi-ovali intensamente basofili, Cromatina finemente dispersa; Citoplasma scarso; Alto rapporto nucleo/citoplasma; Pattern di crescita diffuso con aree di aggregazione; Presenza

di alcune figure mitotiche; Assenza di formazione di osso reattivo. 4. Correlazione con dati clinici e radiologici. Il quadro istologico, correlato con: Età del paziente (1 anno), Presentazione clinica (zoppia da 3 mesi), Sede della lesione (astragalo sinistro), Caratteristiche radiologiche (lesioni osteolitiche) .

Orienta verso una neoplasia primitiva di origine mesenchimale ad alta malignità con comportamento aggressivo. **Dopo si vedrà che entrambe le AI utilizzate hanno una sensibilità più alta verso le lesioni tumorali.** Questo forse è dovuto anche al fatto che i dataset utilizzati per il loro addestramento sono principalmente su patologie tumorali. Investire in AI, fino a pochi anni fa era molto costoso e gli sviluppatori si sono focalizzati prima su aree prioritarie, come l'oncologia . Alcuni dei principali dataset open source sono : TCGA(The Cancer Genome Atlas), Camelyon (una delle Pathology Ai datasets), MIMIC II e III, o ClinicalTrials.gov.

Diagnosi Differenziale Considerando l'insieme dei dati disponibili, le principali diagnosi differenziali includono: Sarcoma di Ewing/PNET (Primitive Neuroectodermal Tumor) - 85%, Osteosarcoma a piccole cellule - 40%, Linfoma primitivo dell'osso - 30% ,Istiocitosi a cellule di Langerhans - 25%

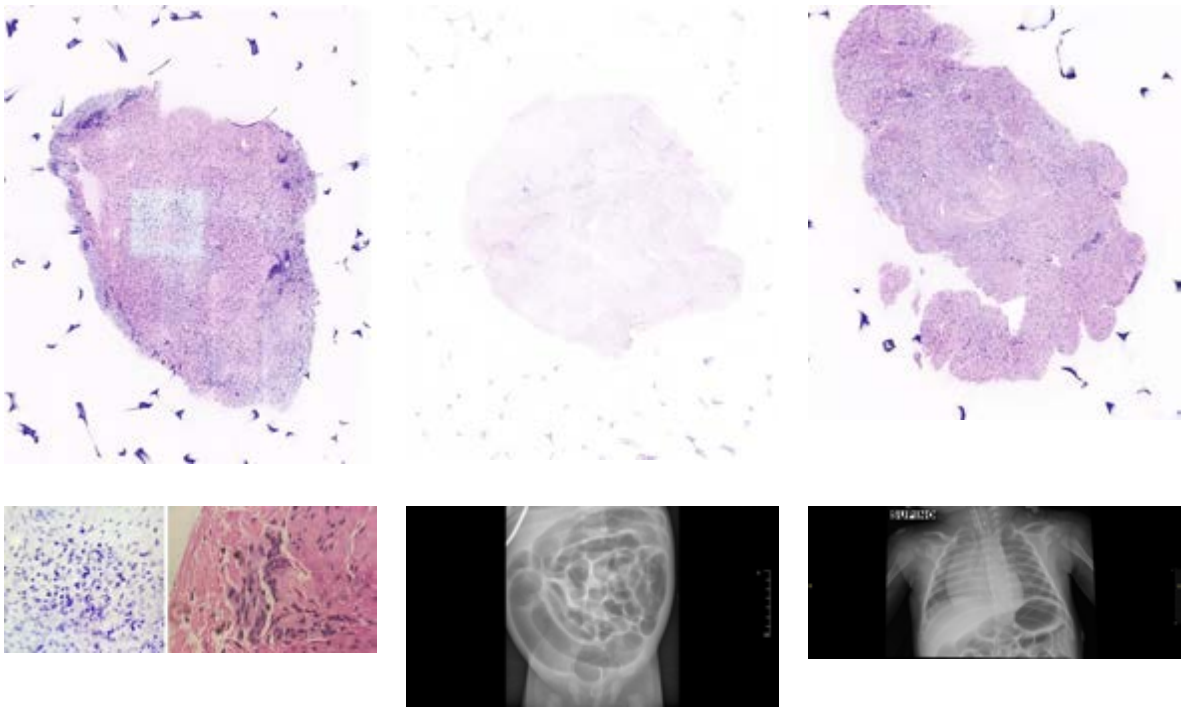
Claude Sonnet 3.7 si basa esclusivamente sul confronto con immagini simili in dataset da cui è stato pre addestrato, e sull'analisi di altri dati, come testo di referti e EHR. In questo caso, questi dati mancano del tutto, non riesce ad implementare un'analisi corretta. La stessa cosa si noterà successivamente sul paz.17, un altro caso in cui l'analisi diretta delle immagini è importante per una diagnosi precisa.

5.4.2 Caso con Patrimonio Informativo Intermedio . Senza IHC . Caso di Paz.03.

Diagnosi AP. Condizione Anatomo Patologica compatibile con Malattia di Hirschsprung.

Dati utilizzati: 3 immagini di Microscopio confocale; 1 vetrino digitalizzato; Immagin Rx torace e Rx clisma Opaco; Referti diagnostica per immagini.

5.4.2.1 Analisi con GPT4-V.



Durata 10 secondi con il seguente **referto**: ***Malattia di Hirschsprung al 95%*** .

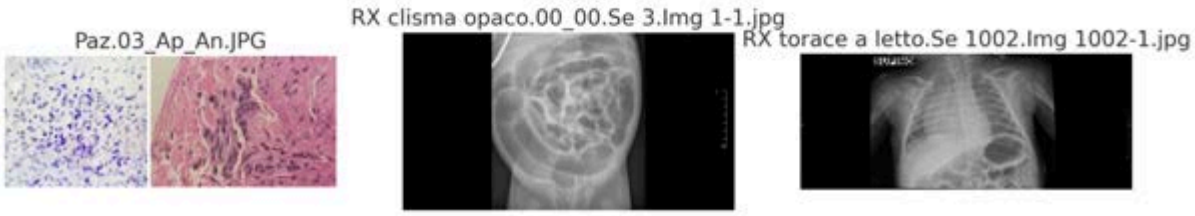
4. Diagnosi Differenziale

Diagnosi	Probabilità (%)	Elementi a favore	Elementi a sfavore
Malattia di Hirschsprung	95%	Assenza di gangli nel sigma e retto, distensione sigmoidea, indice retto-sigmoideo <1	-
Enterocolite Neutropenica	10%	Alterazioni del colon, distensione, possibile infezione	Presenza di iperplasia nervosa, non tipica dell'enterocolite
Ileo meconiale	5%	Dilatazione intestinale	Assenza di calcoli meconiali, RX non suggestivo

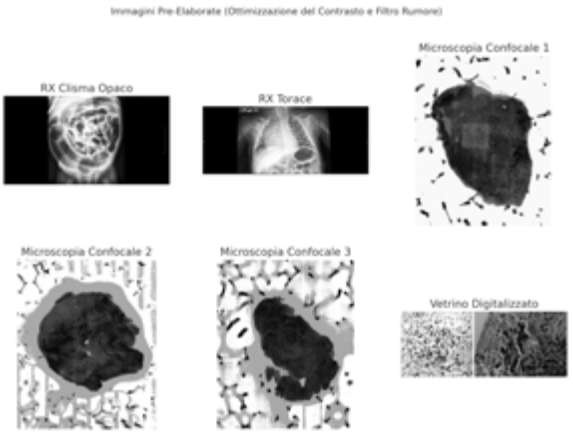
Forziamo cmq. Ai a mostrarci il percorso seguito.

I. Migliora la qualità delle immagini con la seguente spiegazione: sono state elaborate e visualizzate le immagini caricate per l'analisi, includendo: **Tre immagini ottenute tramite microscopia confocale** (3A, 3B, 3C), **Un'immagine di vetrino digitalizzato** (Paz.03_Ap_An.JPG), **Due immagini radiologiche**: RX Clisma Opaco e RX Torace a letto.

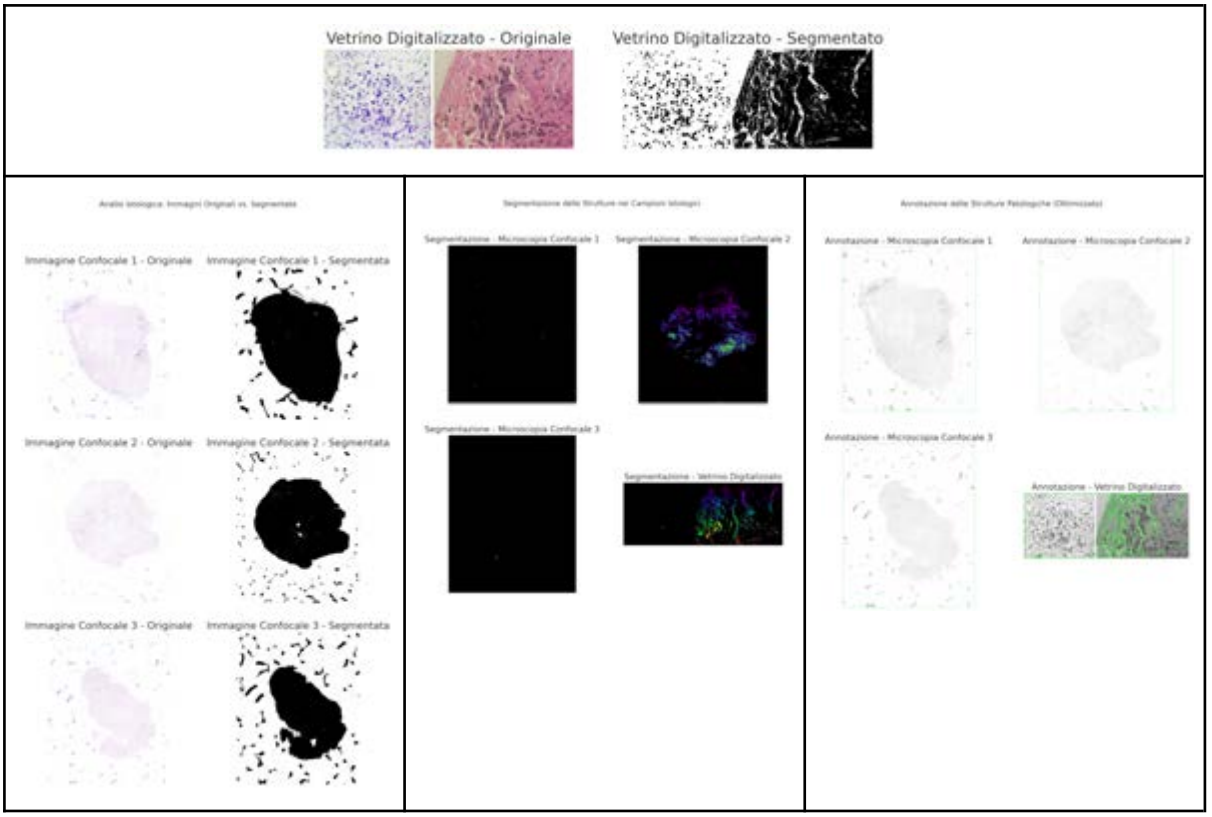




II- Conversione scale dei grigi.



III- Segmentazione ed annotazione delle strutture con i seguenti commenti. **Risultati e Osservazioni: Microscopia Confocale 1-3** → Evidenziazione delle strutture con contorni in **verde**, per identificare le regioni di **iperplasia nervosa e assenza di gangli**. **Vetrino Digitalizzato** → Segmentazione più dettagliata con contorni verdi che **indicano l'assenza di cellule gangliari** e **la presenza di fibre nervose ipertrofiche**.



Alcuni commenti. In questo caso, IA dedica meno tempo all'analisi delle immagini in quanto raggiunge una sua decisione già ai primi passaggi. Va aggiunto un altro fatto, le immagini digitalizzate del vetrino, sono di dimensioni molto più piccole, e contengono meno informazioni ma sono ingrandimenti focalizzati sulle zone di interesse, che di fatto aiutano IA nell'interpretazione.

5.4.2.2 Analisi con Claude 3.7 Sonnet .

Durata 5 secondi. Risultato completo: **Malattia di Hirschsprung (aganglionosi retto-colica) con zona di transizione a livello rettale.**
La diagnosi è supportata da: 1. Quadro istopatologico tipico con assenza di cellule gangliari nel retto, 2. Negatività immunoistochimica per calretinina nelle fibre nervose del segmento agangliare ; 3. Presenza di zone di transizione ben definite tra segmento agangliare e normo gangliare; 4. Correlazione con imaging radiologico caratteristico; 5. Corrispondenza con il sospetto clinico.

5.4.3 Caso con Patrimonio Informativo Completo, inclusi dati IHC . Paz.08.

Diagnosi AP: Sarcoma Embrionale del fegato

5.4.3.1 Analisi con GPT4-v, senza dati IHC

Dati disponibili : 3 immagini di Microscopia confocale + Consulenza radiologica. Dati IHC non inseriti.

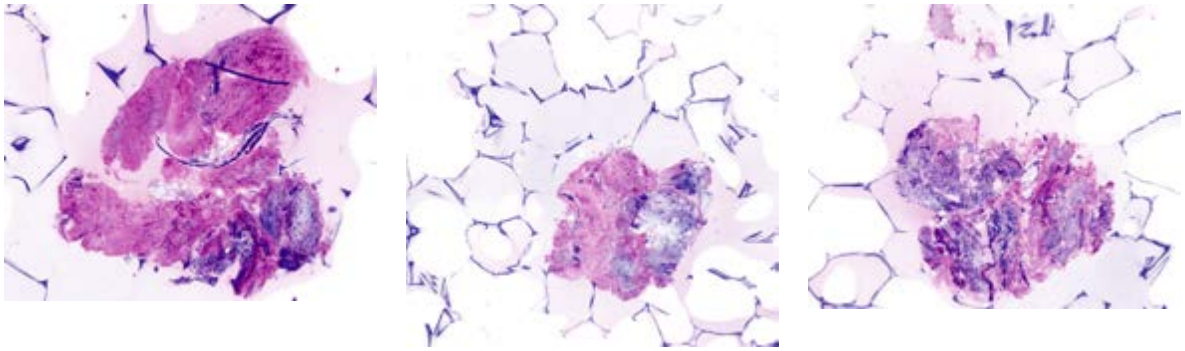
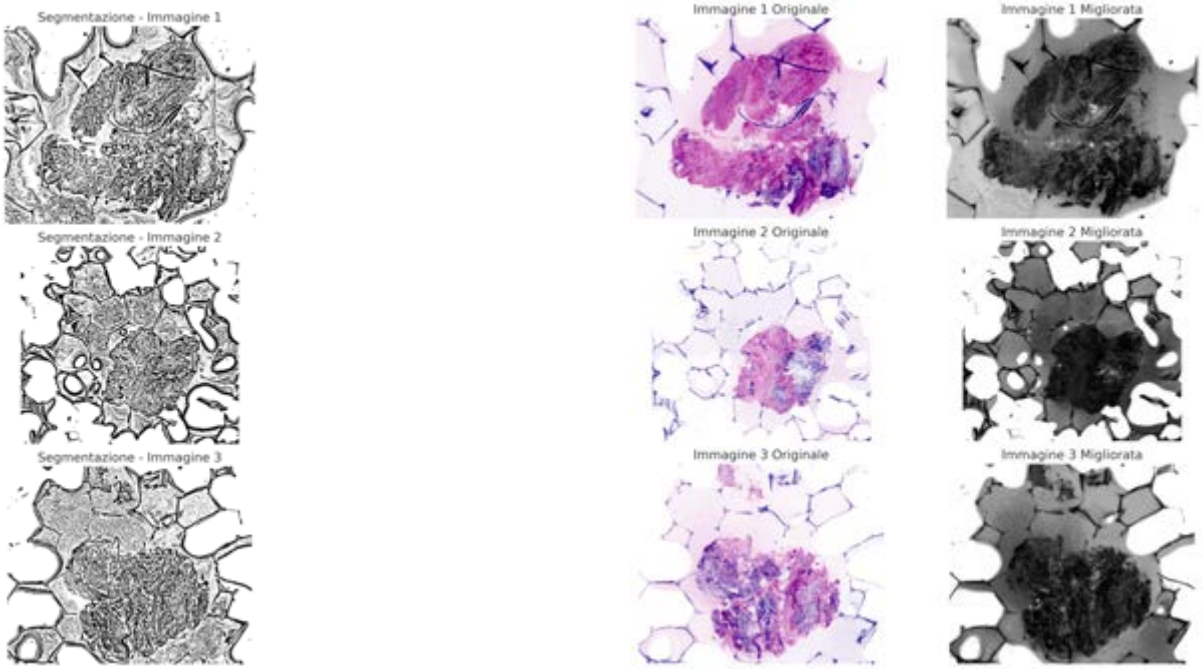


Fig. 1; 2; 3 di Microscopia confocale

I - Elaborazione, segmentazione Immagini e quantificazioni Elementi patologici. con seguente interpretazione:

Le immagini segmentate mostrano: **Aree ipercellulari ben definite**, che corrispondono probabilmente alla componente tumorale. **Margini non netti e infiltrazione nei tessuti adiacenti**, indicando un possibile pattern di crescita infiltrativa. **Zone con bassa densità cellulare**, che potrebbero corrispondere ad aree necrotiche. L'analisi della densità del tessuto patologico nelle immagini confocali ha prodotto i seguenti risultati: **Immagine 1:** 30.19% di tessuto patologico; Immagine **2:** 27.25% di tessuto patologico; **Immagine 3:** 27.08% di tessuto patologico Questi valori suggeriscono una **presenza significativa di lesione tumorale**, con una possibile **componente necrotica e infiltrativa**.



II. Quantificazione dell'Indice Mitotico e della Necrosi con seguente interpretazione Dall'analisi morfologica delle immagini confocali emergono i seguenti dati:

Immagine 1: Indice Mitotico: 651 nuclei in mitosi (elevato, suggerisce alta proliferazione tumorale), **Percentuale di Necrosi:** 39.94% (ampia area necrotica, possibile crescita aggressiva) . **Immagine 2: Indice Mitotico:** 85 nuclei in mitosi (molto inferiore rispetto alla prima immagine, possibile eterogeneità tumorale) **Percentuale di Necrosi:** 38.27% (area necrotica consistente) . **Immagine 3: Indice Mitotico:** 517 nuclei in mitosi (elevata attività mitotica); **Percentuale di Necrosi:** 38.34% (coerente con gli altri campioni) .Questi risultati indicano un **tumore altamente proliferativo con aree significative di necrosi**, suggerendo una possibile neoplasia maligna epatica ad alto grado.

III. Integrazione con dati radiologici. Dalla consulenza radiologica emergono le seguenti informazioni chiave: **Lesione epatica ipovascolare** situata nel **lobo destro del fegato** (S4a e S8). **Coinvolgimento vascolare significativo**: Compressione della vena sovraepatica sinistra. Infiltrazione delle vene sovraepatiche media e destra. Compressione della vena cava retroepatica. **Volume lesionale stimato**: **413,70 ml**. **Presenza di circoli collaterali sovraepatici**, suggerendo un possibile adattamento vascolare secondario alla crescita tumorale.

Diagnosi Differenziale : Epatoblastoma variante embrionale (più probabile per età e caratteristiche istologiche), **Carcinoma epatocellulare pediatrico (meno comune, ma possibile), Tumore mesenchimale maligno epatico (da escludere con IHC) .**

Raccomandazioni per Approfondimento: AFP (α-fetoproteina) ; Glypican-3 ; beta- catenina e Follow Up con ; TAC torace per valutare le metastasi polmonari; Analisi molecolari per marcatori prognostici.

5.4.3.2 Analisi con Gpt.4-V, con IHC

Interpretazione e Diagnosi Finale

Diagnosi Definitiva: La combinazione di: Morfologia istologica (alta attività mitotica, necrosi estesa), Coinvolgimento vascolare e infiltrazione locale, Profilo immunoistochimico (vimentina, Glypican-3+, Ki-67 elevato) è altamente suggestiva **per un sarcoma embrionale del fegato**, una neoplasia pediatrica rara con comportamento aggressivo.

5.4.3.3 Analisi con Claude 3.7 senza IHC Risultato analisi senza dati IHC

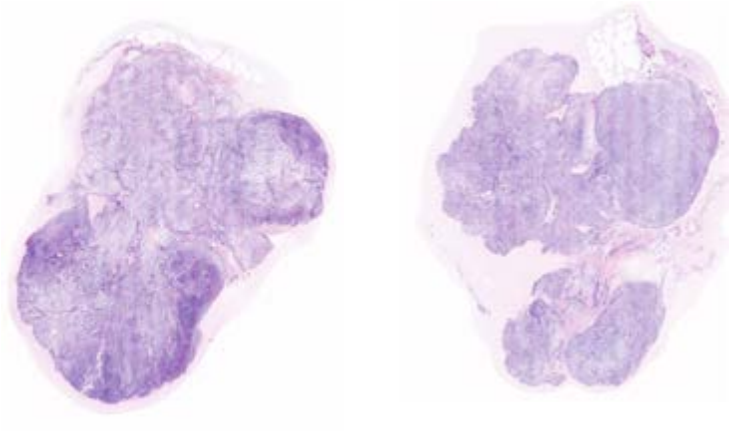
Epatoblastoma Epiteliale/Misto 85% / Epatoblastoma Tipico Piccole cellule indifferenziato 80% /Sarcoma embrionale indifferenziato del fegato 75%

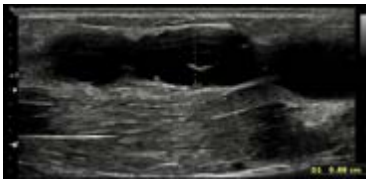
5.4.4.2 Analisi con Claude 3.7 Durata 5 secondi. Con dati IHC
Sarcoma Embrionale indifferenziato del fegato (UESL) - 95%
Successivamente sono stati sottoposti all'IA secondo le modalità di cui sopra tutti e 22 i casi in studio. *Quello che possiamo anticipare in questa fase dopo lo studio di questi primi casi è il fatto che la presenza di dati integrati rende l'analisi sulla patologia e possibile diagnosi, sia più veloce che*

più accurata. I dati clinici rappresentano un elemento cruciale nel processo diagnostico. Tuttavia, i dati DICOM provenienti da TAC e RMN non sono stati utilizzabili nella presente fase di analisi. La complessità e l'ingente volume di immagini per ogni caso clinico richiederebbero preliminarmente una selezione mirata da parte del radiologo, identificando le immagini maggiormente significative per l'analisi.
Questa limitazione evidenzia un'importante prospettiva di sviluppo futuro: l'integrazione diretta tramite API con i server PACS. In tale scenario evolutivo, l'Intelligenza Artificiale potrebbe autonomamente: Analizzare l'intero set di immagini disponibili ; Selezionare automaticamente le immagini clinicamente più rilevanti, Procedere con un'analisi comprensiva e contestualizzata. Tale approccio rappresenterebbe un significativo avanzamento nell'integrazione diagnostica, consentendo un'elaborazione più efficiente e completa dei dati radiologici, riducendo il carico di lavoro manuale e potenzialmente migliorando la precisione diagnostica.
In questo studio solo in un caso, **Id 17** abbiamo chiesto a **GPT-4V** una valutazione delle immagini RX. Invece diverso il caso di dati di RX. Un altro risultato è che l'utilizzo di Prompt non strutturati di fatto non permette l'utilizzo di questo strumento in quanto, le risposte e le procedure non sono ripetibili e riproducibili. Altro fatto importante è la descrizione del percorso seguito da software di Computer Vision, solo GPT-4V, che lo rendono molto istruttivo e riutilizzabile.

Abbiamo suddiviso tutti i 19 casi rimanenti i due gruppi con e senza IHC e abbiamo analizzato tutti. 3 dei casi senza referto AP, sono stati analizzati lo stesso, ma considerati in un terzo gruppo, né tra le risposte corrette né sbagliate.

Id. 01 Tumore di Spitz atipico.

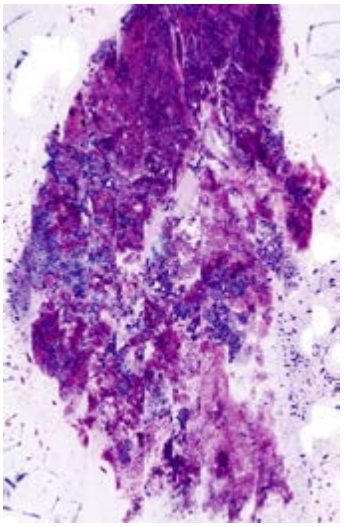


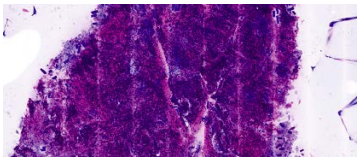


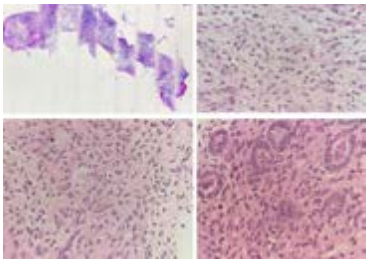
Referto Eco cute e sottocute.
Note cliniche:
Allargamento margini chirurgici nevo di Spitz

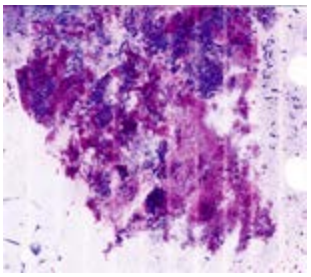
GPT - 4V	D. No IHC. Nevo di Spitz Classico *(diagnosi più probabile)* Nevo di Spitz Atipico (da escludere con IHC) D. Con IHC. Tumore di Spitz atipico
Claude 3.7	D. No IHC. 1. Nevo di Spitz (più probabile). dd . Tumore di Spitz atipico: 5%Melanoma spitzoide: <5% D. Tumore di Spitz atipico (diagnosi principale): dd.Nevo di Spitz convenzionale: 10%

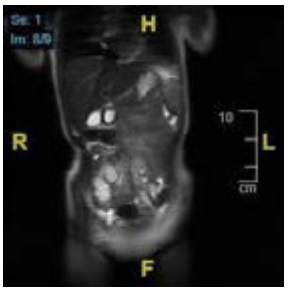
Id. 02 Nefroblastoma (Tumore di Wilms) di tipo misto, con necrosi ed aspetti regressivi da terapia neoadiuvante stimabili attorno al 50%, con rischio intermedio, in stadio III (Notizie cliniche: Rottura della neoplasia durante biopsia. Referto da Pacs)







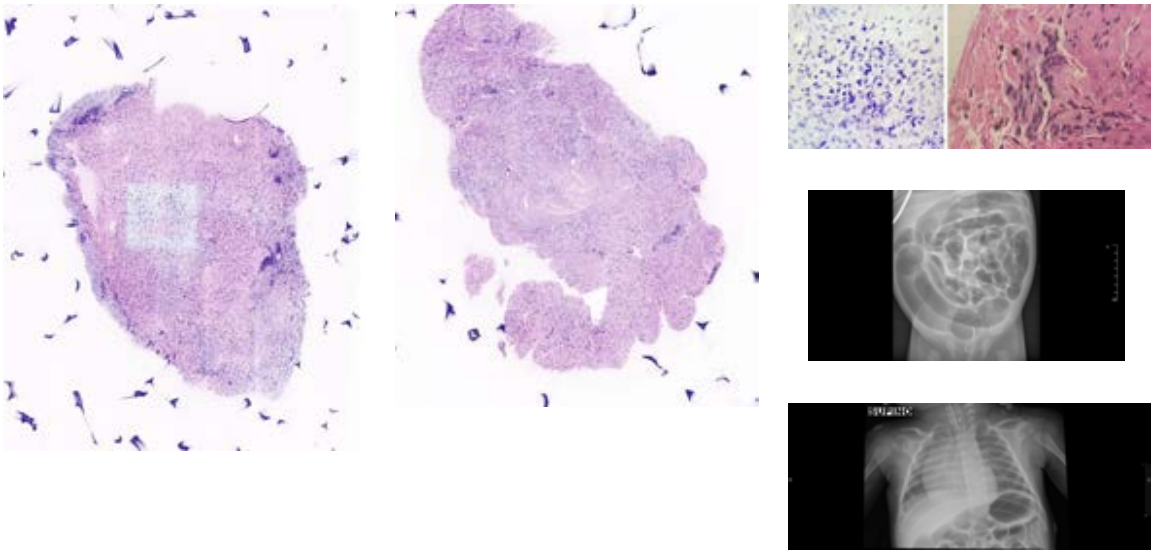




GPT 4v D. Tumore di Wilms .

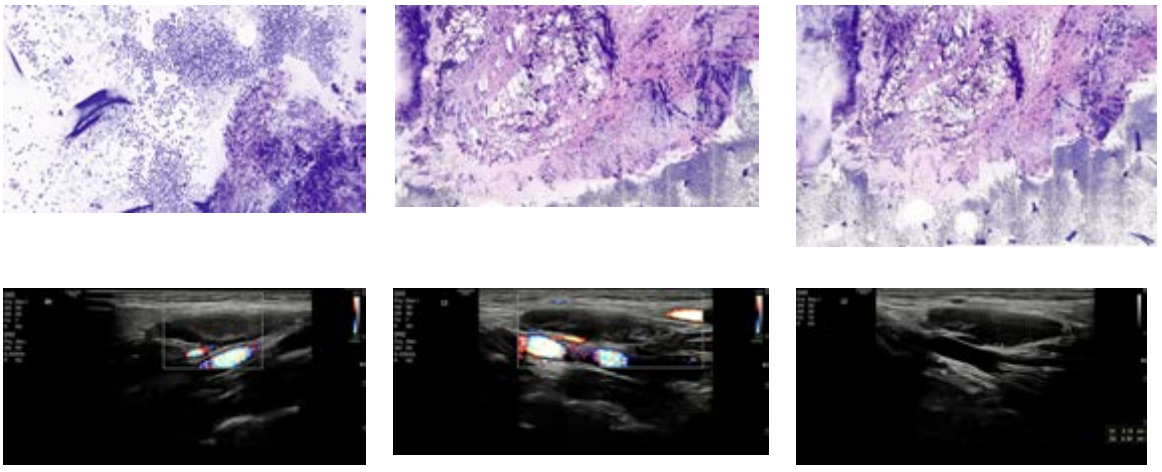
Claude .3.7 D. Tumore di Wilms (Nefroblastoma)

Id. 03 Quadro compatibile con Malattia di Hirschsprung



Gpt 4-V	D. Malattia di Hirschsprung
Claude 3.7	D. Malattia di Hirschsprung (aganglionosi retto-colica)

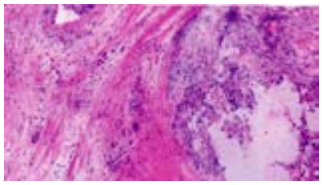
Id. 04 Linfoadenopatia Iperplastica con pattern marginale prevalente
Clinica: Linfoadenopatia laterocervicale, asportazione linfonodo a destra. Sospetta malattia linfoproliferativa. Referto Eco Collo.

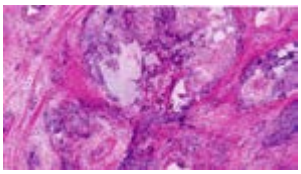


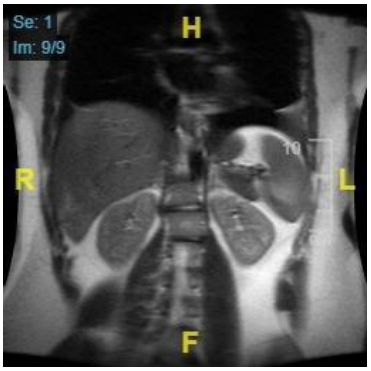
Gpt -4V	D. Iperplasia linfoide reattiva
Claude 3.7	D. Linfadenite granulomatosa non necrotizzante

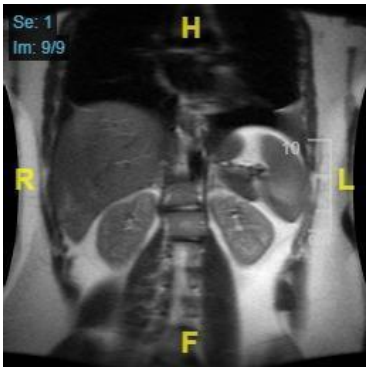
Id. 05 Neoplasia germinale non seminomatosa mista costituita da carcinoma embrionario 90% e tumore sacco vitellino 10% . Stadio pT2.

Le due foto principali della Microscopia Confocale sono maggiori di 100Mb e non sono utilizzabili in questo lavoro. Referto e immagini RM Addome. Solo una in bassa qualità è stata utilizzata. Clinica. Clinica: Neoformazione testicolare con markers negativi.





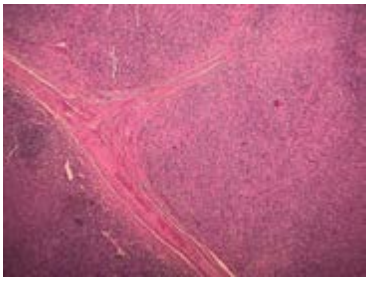


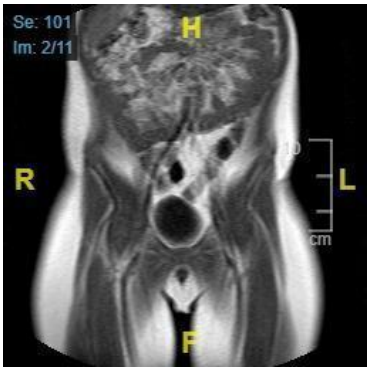


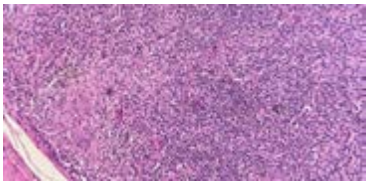
GPT -4V D. Seminoma testicolare (alta probabilità). *Disgerminoma (forma rara nei maschi) (probabilità media, 10-15%)*

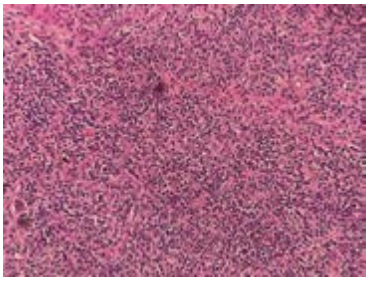
Claude 3.7 D. Modificazioni post-trattamento di un tumore a cellule germinali.
dd. Tumore dei cordoni sessuali e dello stroma (60%)Teratoma con componente fibrosa predominante (40%)

Id. 06 Linfoma di Hodgkin Varietà sclerosi nodulare. Foto microscopio confocale non utilizzabili, troppo pesanti.







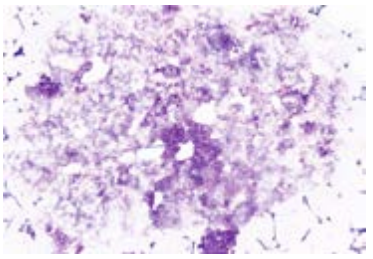


Referto TAC e RMN. Clinica: BOM destra e sinistra in paziente con Linfoma di Hodgkin

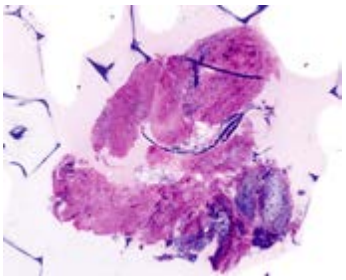
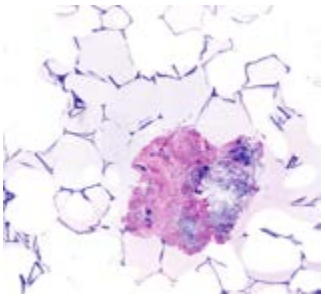
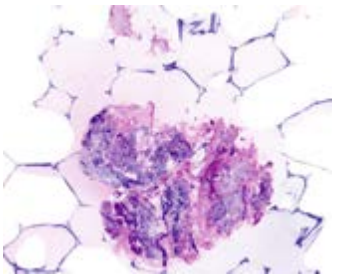


GPT - 4V D. No IHC. Linfoma di Hodgkin variante sclerosi nodulare post-CHT

	D. Con IHC. Linfoma di Hodgkin classico, variante sclerosi nodulare (con aree focali tipo 2 secondo BNLI), con evidenza di risposta parziale al trattamento e positività per EBV
Claude 3.7	D. No IHC. Linfoma di Hodgkin, Variante a Sclerosi Nodulare, con evidenza di risposta al trattamento D. Con IHC. Linfoma di Hodgkin variante sclerosi nodulare, EBV-associato, in fase di remissione parziale post-chemioterapia.

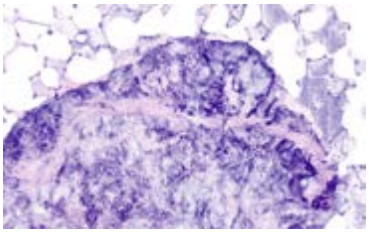
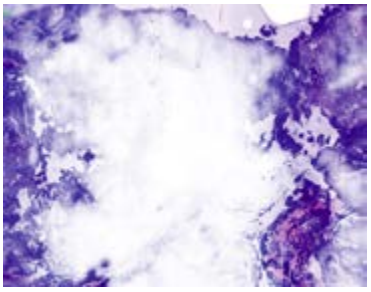
<table>
<tr><td colspan="3">Id.07 A1-B1: Frammenti di tonaca muscolare in cui si osservano sottili strutture nervose; non evidenza di elementi ganglionari. C1-C2: Parete colica con normale rappresentazione delle tonache. Non evidenza di elementi ganglionari né nel plesso sottomucoso né nel plesso muscolare.</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>Presenti Eco Addome completo + Ecografia Tiroidea</td></tr>
<tr><td>Gpt 4-V</td><td colspan="2">D. Enteropatia autoimmune (45%)
dd. Malattia celiaca precoce (30%) Colite allergica (25%)</td></tr>
<tr><td>Claude 3.7</td><td colspan="2">D. Malattia Infiammatoria Intestinale Cronica, probabile Colite Infantile Colite Allergica/ Eosinofila.
dd. Malattia Infiammatoria Intestinale Infantile (20%)
Colite Infettiva (10%)</td></tr>
</table>

Id. 08 Sarcoma embrionale del fegato.
Notizie cliniche. Neoplasia epatica con ripetizioni polmonari.

GPT - 4V	D. No IHC. Lesione compatibile con neoplasia epatica aggressiva pediatrica Epatoblastoma (HB) dd. Carcinoma epatocellulare (HCC)/Sarcoma Epitelioide o Mesenchimale/Tumore Rabdoide Teratoide D con IHC. Sarcoma embrionale epatico
Claude 3.7	D. No IHC. Epatoblastoma epiteliale/misto dd. Epatoblastoma tipo piccole cellule indifferenziato (80%) Sarcoma embrionale indifferenziato del fegato (70%) D con IHC. Sarcoma embrionale indifferenziato del fegato (UESL)

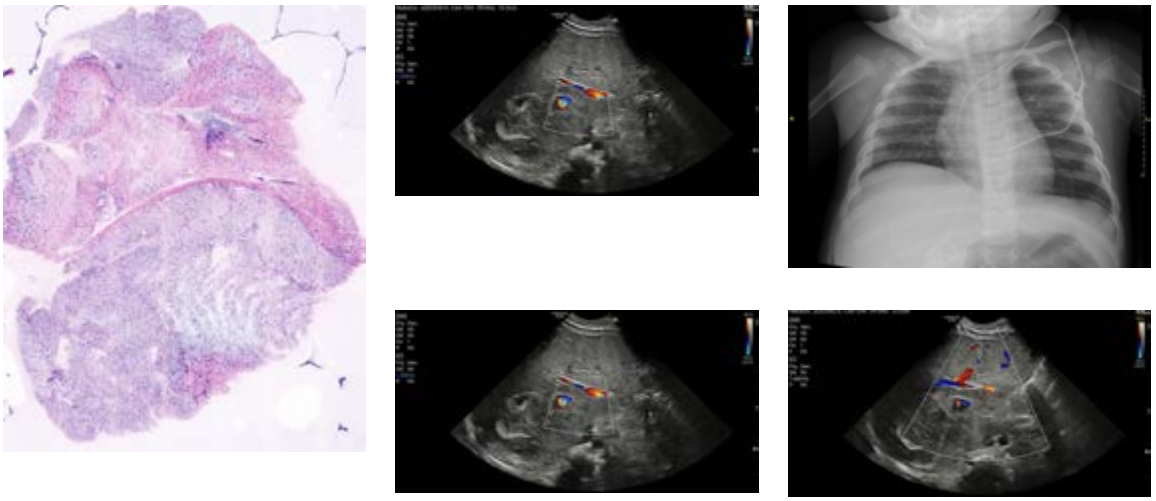
Id. 09 Neoplasia mesenchimale maligna, tipo rabdomiosarcoma.

Note cliniche: BOM dx e sin rivalutazione
Rabdomiosarcoma con trascritto di fusione PAX3:FOXO1 positivo, N1, metastatico al midollo osseo dopo VI ciclo CHT

Gpt-4v	D. Rabdomiosarcoma alveolare dd. Neuroblastoma metastatico (5%) Sarcoma di Ewing 5%)
Claude 3.7	D. Rabdomiosarcoma in regressione dopo CHT

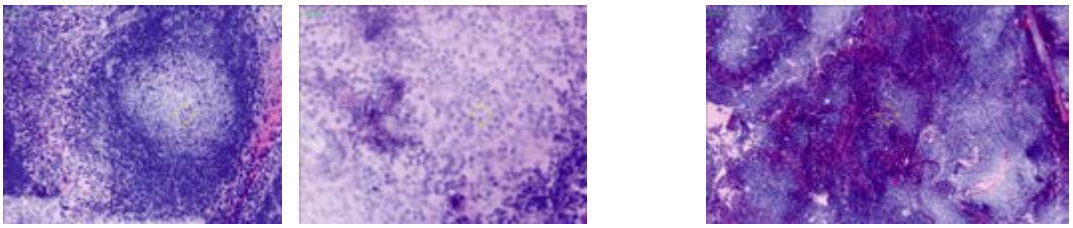
Id. 10 Neuroblastoma indifferenziato nel materiale esaminato (sec Shimada/INPC 1999) N. Cliniche. Paziente con massa addominale (sospetto neuroblastoma) con localizzazioni a livello del fegato.

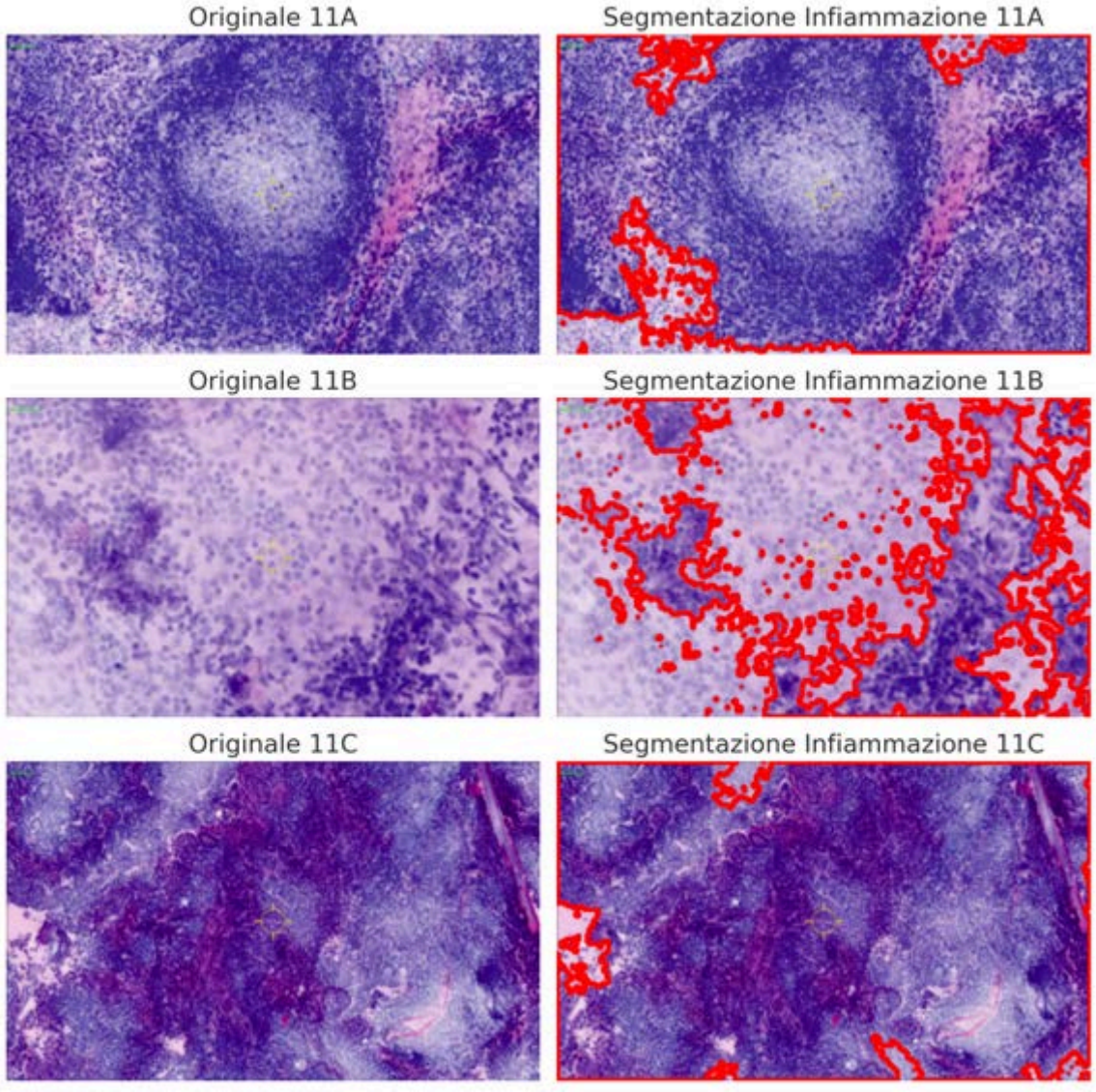




GPT - 4V	D. Neuroblastoma indifferenziato dd. Tumore di Wilms (nefroblastoma) 8%/ Feocromocitoma surrenalico → 5%
Claude 3.7	D. Neuroblastoma (85%) dd. Tumore di Wilms(20%) Sarcoma di Ewing Extraosseo (10%) Rabdomiosarcoma (10%) Linfoma Non Hodgkin (5%)

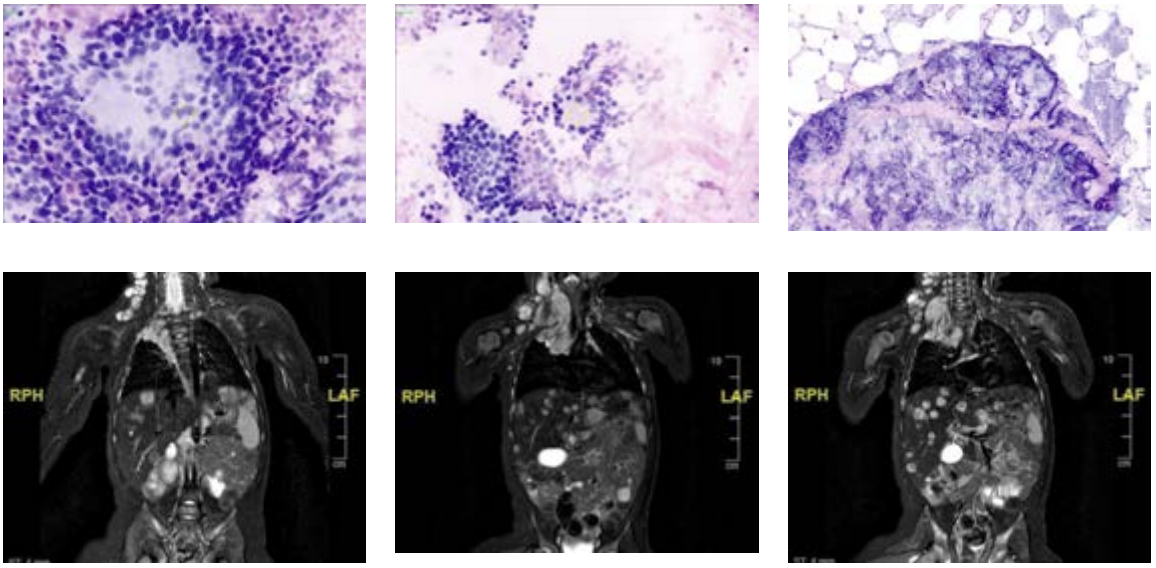
Id. 11 Iperplasia follicolare reattiva florida





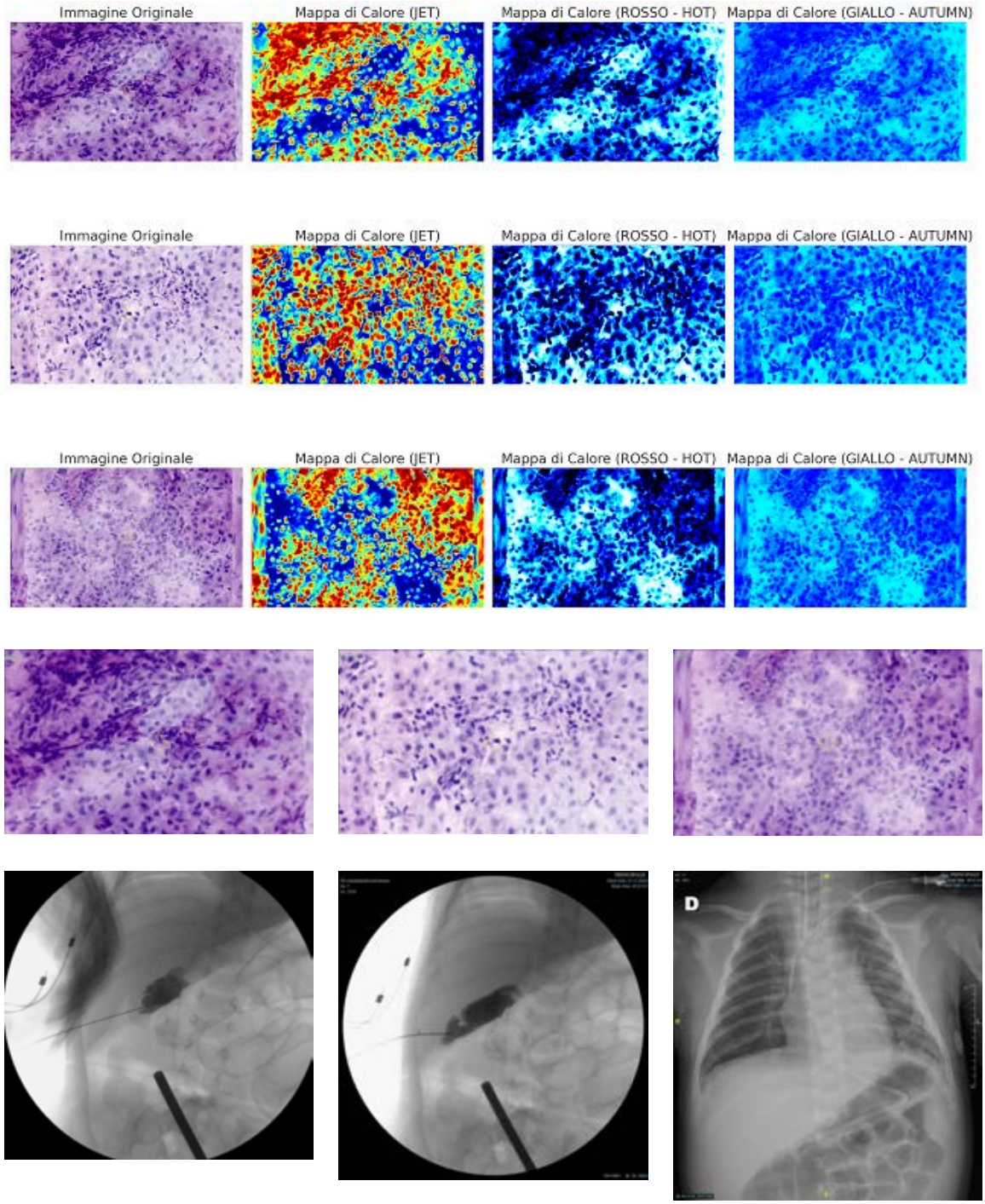
Gpt 4-v	D. No Ihc. Iperplasia follicolare reattiva D. Con IHC . Iperplasia follicolare reattiva florida
Claude 3.7	D. No IHC Iperplasia follicolare reattiva dd. Linfoma di Hodgkin, varietà a predominanza linfocitaria nodulare/ Linfoma follicolare pediatrico D. Con IHC Iperplasia follicolare reattiva florida

Id. 12 Neuroblastoma poco differenziato

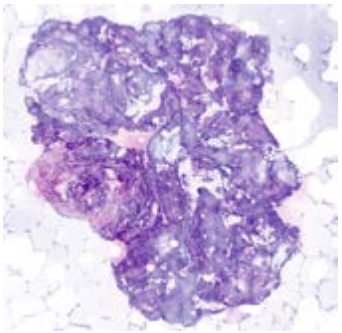
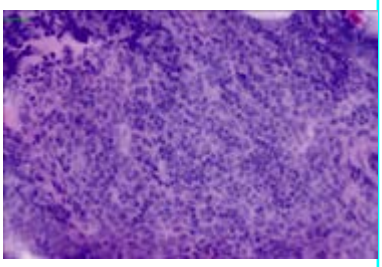
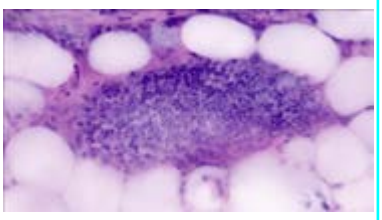
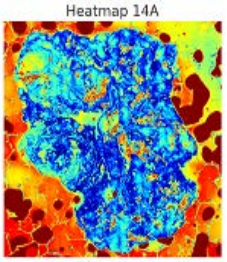
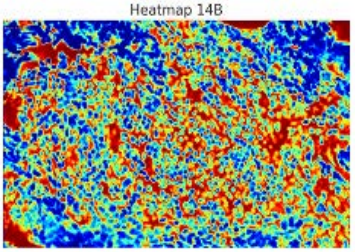
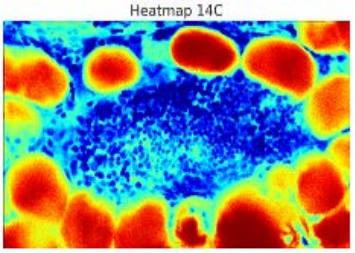


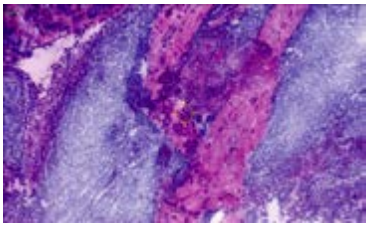
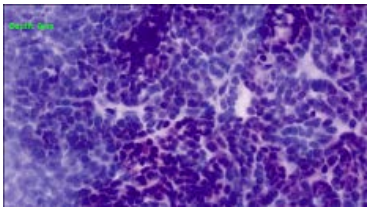
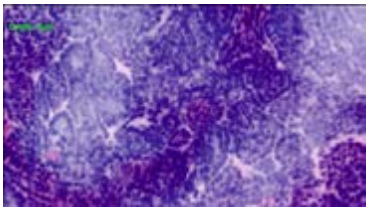
Gpt - 4V	D. Neuroblastoma MS con risposta parziale alla CHT
Claude 3.7	D. Neuroblastoma poco differenziato

Id. 13 Epatopatia colestatica con modificazione a cellule giganti.
N. Cliniche. ittero colestatico (bassa GGT), colangiografia negativa per ostruzioni

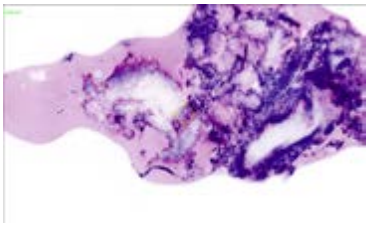


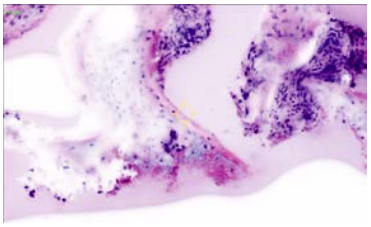
Gpt -4V	D. Epatite neonatale lieve con infiammazione portale e possibile eziologia colestatica a GGT bassa
Claude 3.7	D. Deficit di sintesi degli acidi biliari (70%) /Colestasi intraepatica familiare progressiva - PFIC (65%) Epatite Neonatale (40%)

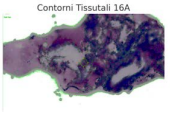
<table>
<tr><td colspan="2">Id. 14 (No referto AP)
Presenti referto RX torace e TC Torace.</td></tr>
<tr><td>

</td><td>Heatmap 14A

Heatmap 14B

Heatmap 14C
</td></tr>
<tr><td>Gpt 4-v</td><td>D. Timoma (50%),
dd. Linfoma linfoblastico T (30%) Iperplasia timica e Teratoma timico (10%)</td></tr>
<tr><td>Claude 3.7</td><td>D. Linfoma Linfoblastico T Primitivo (T-LBL) 85%,
dd. Timoma di tipo B, ricco di linfociti (10%) e Linfoma diffuso a piccole cellule B(5%)</td></tr>
</table>

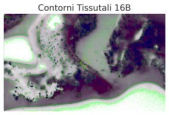
Id. 15 Adenoma metanefrico		
		
Gpt 4-V	D. Prima di chiedere Dd : **Neuroblastoma indifferenziato**	D . Dopo richiesta Dd Nefroblastoma (80%) e Adenoma Metanefrico (15%)
Claude 3.7	D. Prima di richiedere Dd: Nefroblastoma(80%) / Adenoma metanefrico 20%	D. Dopo richiesta Dd : Adenoma metanefrico (75%) Nefroblastoma (20%)

Id. 16 Lesione ossea di natura benigna, di verosimile natura riparativa.
Vedere analisi sopra.









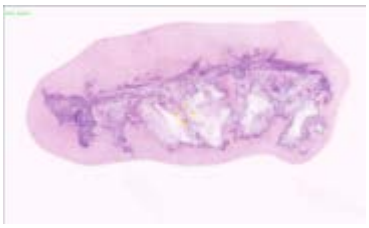
Gpt.4 V

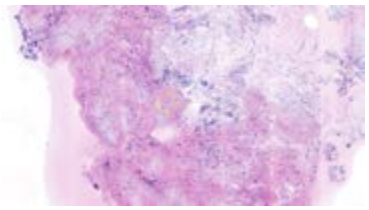
D. Osteomielite, Istiocitosi

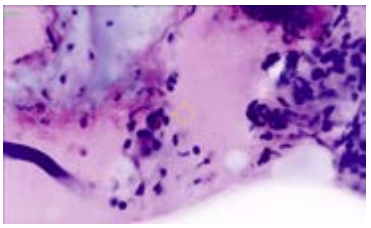
Claude 3.7

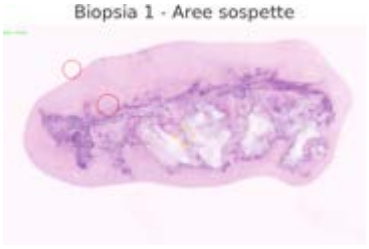
D. Sarcoma di Ewing/PNET (Primitive Neuroectodermal Tumor) - 85%

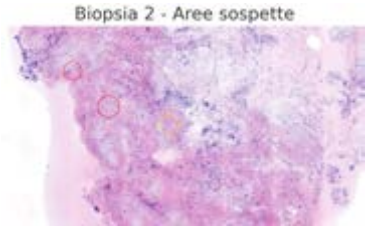
Id. 17 Cisti ossea benigna di tipo aneurismatico

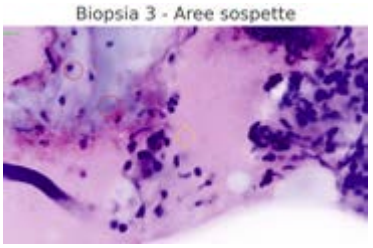
























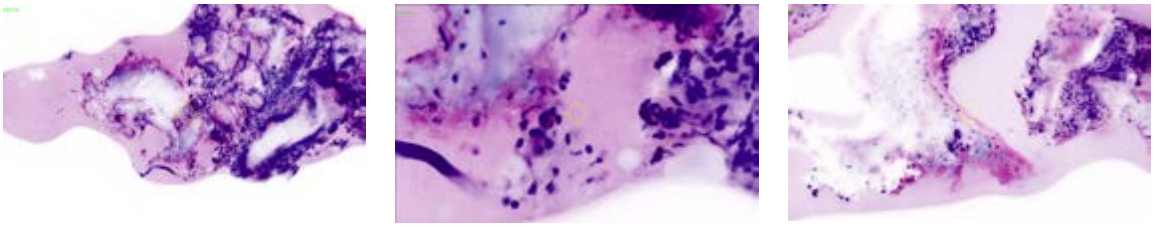




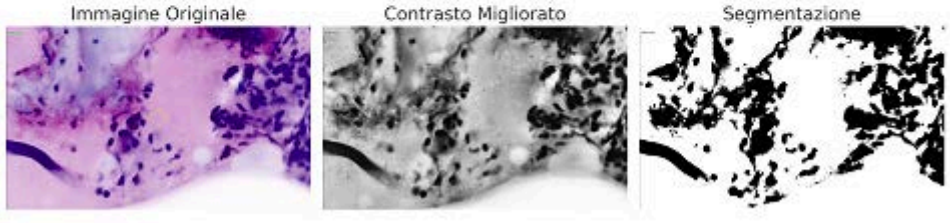
Gpt -4V D. Cisti Ossea Aneurismatica (ABC)
dd. Istiocitosi a cell. Langerhans (20%)

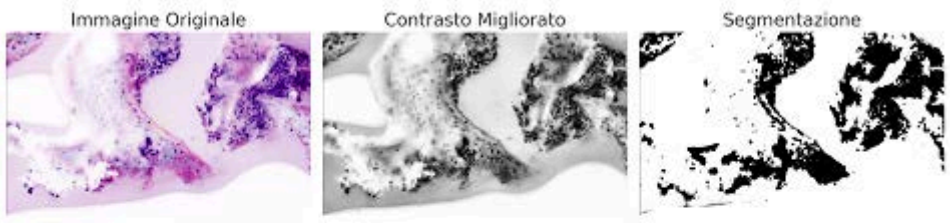
Claude 3.7 D. Istiocitosi a Cellule di Langerhans (LCH) con coinvolgimento del femore destro.
dd. Cisti Ossea Aneurismatica (ABC) - Sebbene questa sia la diagnosi di invio, appare meno probabile per la mancanza di livelli fluido-fluido caratteristici alla RM e l'assenza istologica di spazi cistici ripieni di sangue con setti fibrosi. Le ABC tipiche mostrano spazi cavernosi ripieni di sangue separati da setti fibrosi contenenti cellule giganti osteoblastiche, fibroblasti e tessuto osteoide reattivo

Id. 18 Lesione reattiva benigna

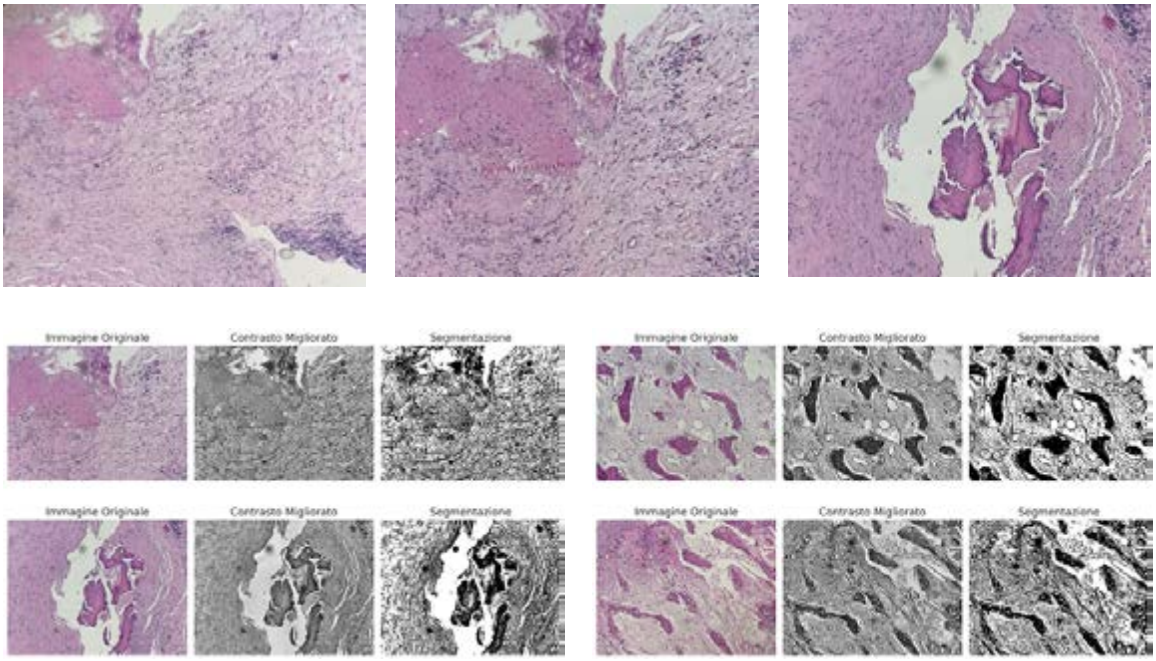








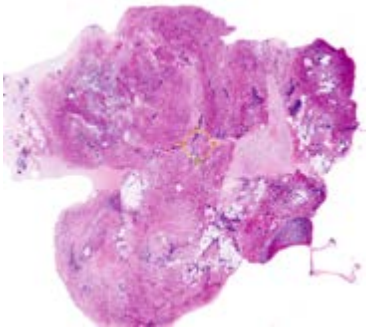


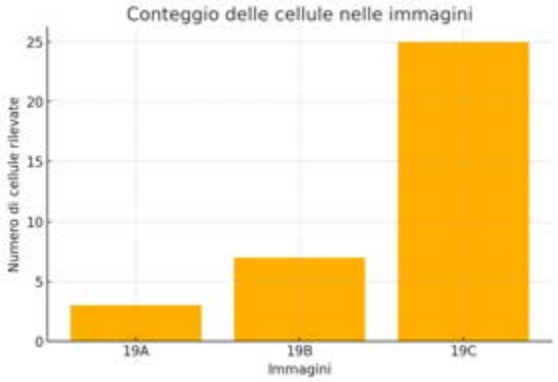


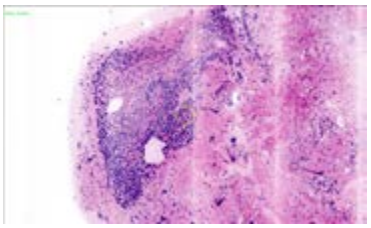
Gpt 4.v D. No IHC. Osteomielite cronica.
dd. Malattia di Legg Calvé-Perthes (15%), displasia fibrosa (10%)
D con IHC. Lesione Fibro ossea benigna di tipo infiammatorio con aree di necrosi e fibrosi reattiva.

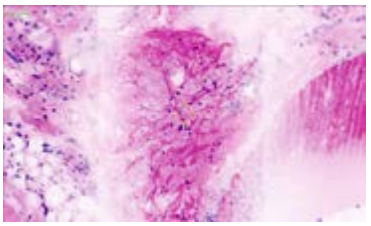
Claude 3.7 D. No IHC. Artropatia da microcristalli - Gotta giovanile.
dd. Sinovite villonodulare pigmentata (80%), Artrite reattiva/ infiammatoria
D con IHC. Lesione fibro -ossea benigna di tipo infiammatorio (95%)

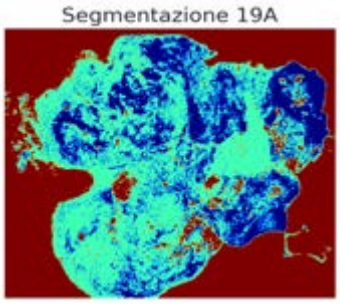
Id.. 19 (No referto AP) Sospetta lesione infiammatoria astragalo
Nessun dato clinico, no PACS, no referti.

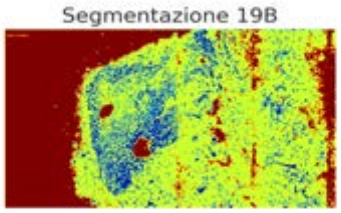


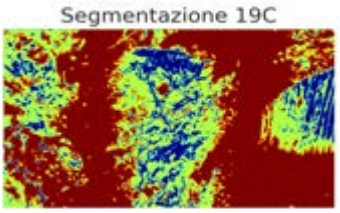


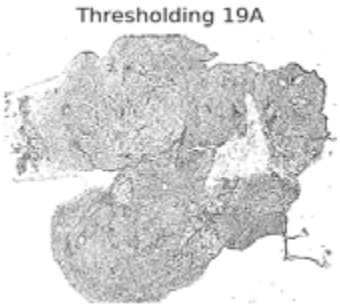


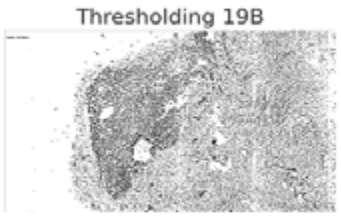


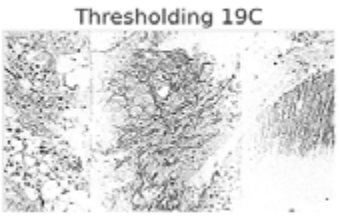








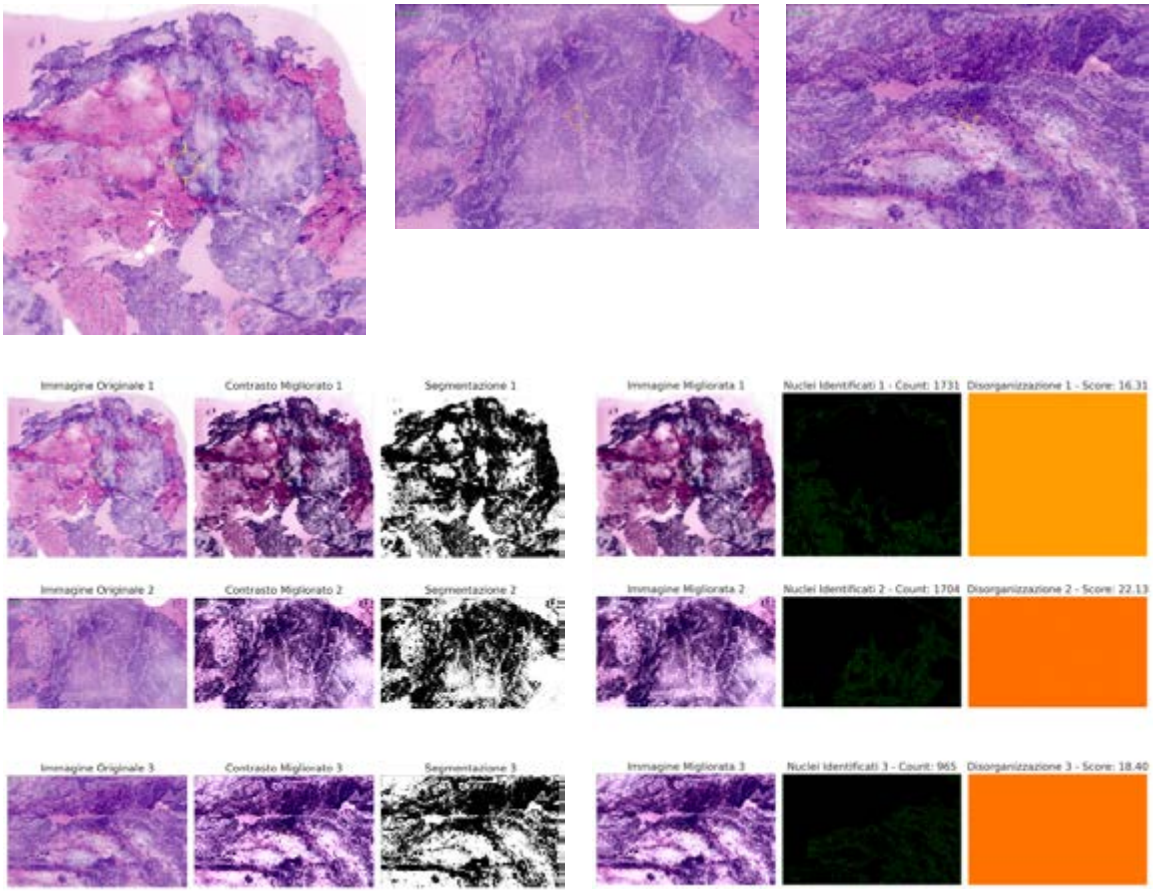




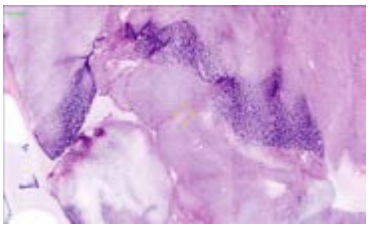
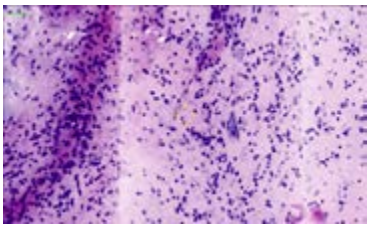
Gpt-4V D. Processo infiammatorio cronico, con possibile coinvolgimento vascolare e fibrosi reattiva. L'ipotesi principale rimane un processo osteomielitico cronico
dd. Sinovite villonodulare pigmentata (20%) e Tumore a cellule giganti (10%)

Claude 3.7 D. Lesione infiammatoria dell'astragalo, con maggiore probabilità riferibile a sinovite villonodulare pigmentata, forma localizzata
in dd con Artrite idiopatica giovanile (85%)/Osteomielite cronica non suppurativo (60%)/Osteoma Osteoide(fase iniziale 40%) e Granuloma a cellule giganti (30%)

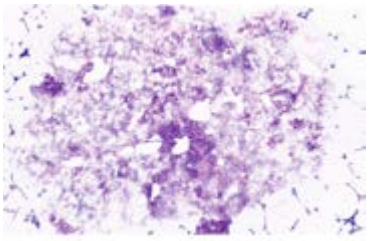
Id. 20 Sarcoma di Ewing



Gpt 4v	D.Sarcome di Ewing . dd con osteomielite cronica (40%) e Osteosarcoma teleangectasico (30%)
Claude 3.7	D. Sarcoma di Ewing/PNET dd. Linfoma primitivo osseo - 10% e Rabdomiosarcoma - 5%

Id.. 21.*(No referto AP)* Lesione cerebellare. Sospetto glioma basso grado		
		Referti RX Torace e TC Cerebrale
Gpt 4-V	D. Astrocitoma Pilocitico 40% dd. Astrocitoma diffuso 30%, Ganglioma 15%, Ependimoma 10%	
Claude 3.7 Sonnet	D. Astrocitoma Pilocitico dd. Astrocitoma diffuso 10-15% Ependimoma <5%	

Paz. 22. Papilloma del plesso corioideo, WHO grado 1.



Notizie cliniche. Residuo papilloma del plesso corioideo del IV ventricolo.

Referti. RM Encefalo
Eco Addome Completo
Rx Torace

GPT - 4v	D. No IHC. Papilloma del plesso corioideo residuo (WHO Grade I) D. Con IHC. Papilloma del plesso corioideo residuo (WHO Grade I)
Claude 3.7 Sonnet	D. No IHC. Papilloma del plesso corioideo residuo (WHO Grade I) D. Con IHC. Papilloma del plesso corioideo residuo (WHO Grade I)

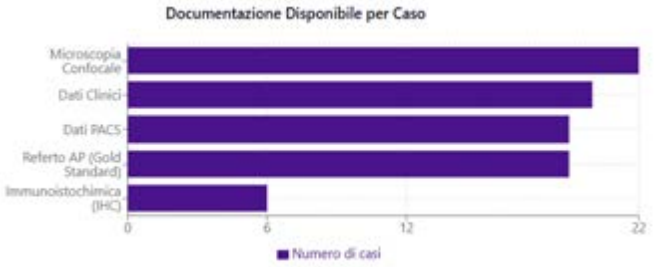
5.5 Valutazione ed Analisi comparativa.

Prima di pubblicare la valutazione dei risultati, i 3 casi senza referto AP, non sono stati considerati nella valutazione qualitativa e quantitativa, ma sono stati racchiusi in un terzo gruppo " No Gold Standard". Abbiamo considerato come D. certa tutte quelle diagnosi in cui non ci sono proposte diagnosi differenziali o se ci sono non raggiungono comunque lo score del 50% di possibilità . Cmq. tutti i referti generati sono archiviati per eventuali future elaborazioni.



A seguire distribuzione dei casi per sesso per età e per tipo di lesione alla richiesta di esame AP. Su 22 casi, 13 sono di sesso maschile e 9 di sesso feminile. Età media, 5.7 anni , con suddivisione per fasce di età (0-2 , 5 ; 3-5, 7; 6-10, 6; 11-14, 3; e 15-18 anni 1) .

Suddivisione dei casi per localizzazione anatomica della lesione . Abbiamo 6 casi con patologie del tessuto osseo, 4 casi con patologia linfonodale, 3 patologie gastrointestinali, 3 casi con patologia epatica, 2 del sistema nervoso e apparato urinario e un caso per patologie della cute e dell'apparato genitale.

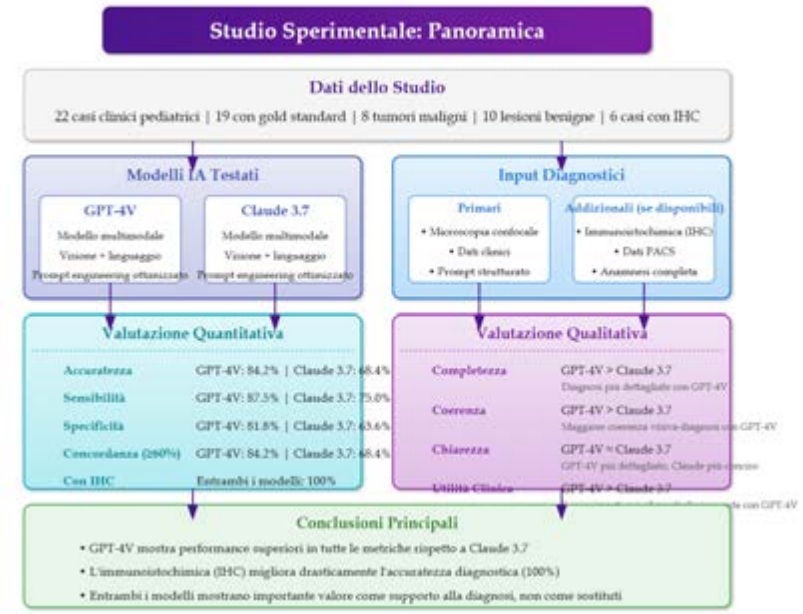


In base alla documentazione presente abbiamo suddiviso secondo la disponibilità dei documenti da valutare. MC- Microscopia confocale, tutti e 22) ; IHC -Immunoistochimica (6) ; Dati PACs (19, ma in realtà non si è trattato di dati PACs ma di trascrizione di solo 1 referto/caso o referti e immagini PNG). In 19 pazienti è presente il referto AP utilizzato come Gold Standard . Dati Clinici in 19 pazienti, anche se in realtà abbiamo considerato come dati clinici presenti, anche la sola nota clinica nel referto AP. Non erano disponibili dati clinici come Patient Summary o EHR.

Abbiamo proseguito con una valutazione quantitativa e qualitativa. Abbiamo valutato i seguenti parametri.

Valutazione quantitativa. Accuratezza: Percentuale di diagnosi corrette fornite dal modello rispetto al gold standard (referti di anatomia patologica). **Sensibilità:** Capacità del modello di identificare correttamente i casi positivi (veri positivi) rispetto al totale dei casi effettivamente positivi. **Specificità:** Capacità del modello di identificare correttamente i casi negativi (veri negativi) rispetto al totale dei casi effettivamente negativi. **Concordanza:** Kappa di Cohen, misura la concordanza tra due osservatori, tenendo conto della concordanza casuale.

In un confronto fra le due soluzioni Gpt-4V e Claude 3.7 abbiamo riscontrato:



Accuratezza 84,2%/68,4%

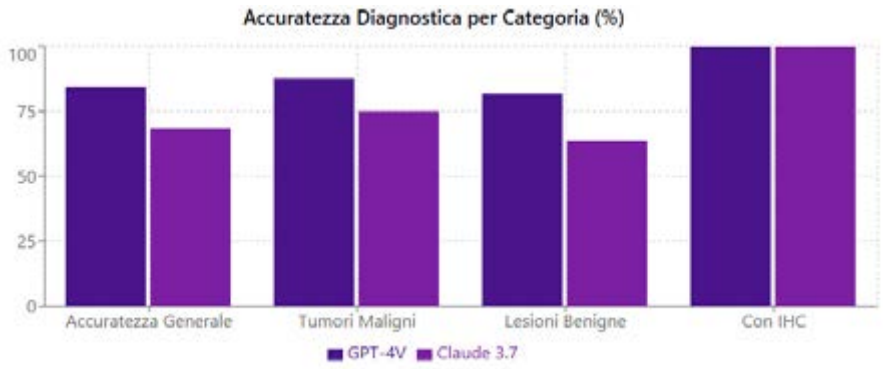
Sensibilità 87,5%/75%

Specificità 81,8/63,6%

Concordanza 84,2%/68,4%

Con IHC entrambi i modelli concordanza al 100% .

La presenza bilanciata di patologie benigne e maligne permette di avere sensibilità (Maligno individuato su Maligno GS) e specificità (benigno individuato/benigno GS) come parametri ben testati.. Dal grafico che segue si nota bene il fatto già citato in altri capitoli, la maggiore sensibilità di entrambe le soluzioni per le lesioni maligne, 87,5% / 75% rispetto alle lesioni benigne 81,8%/ 63,6%.



Valutazione Qualitativa. La valutazione qualitativa si è basata sull'analisi delle diagnosi fornite dai modelli di IA rispetto al gold standard. Sono stati presi in considerazione i seguenti aspetti. **Completezza**: Il modello ha fornito una diagnosi completa e accurata, includendo tutti gli elementi rilevanti? **Coerenza:** La diagnosi fornita dal modello è coerente con i dati clinici e le immagini? **Chiarezza:** La diagnosi è presentata in modo chiaro e comprensibile? **Utilità clinica:** La diagnosi fornita dal modello può essere utilizzata per prendere decisioni cliniche? L'analisi qualitativa ha permesso di evidenziare i punti di forza e di debolezza dei modelli di IA e di identificare le aree in cui è necessario un ulteriore sviluppo.

A seguire una panoramica sullo studio.

Valutazione della performance qualitativa delle due soluzioni, valutando Completezza, coerenza, Chiarezza ed utilità clinica.

Completezza. *Valutazione di tutti gli elementi diagnostici rilevanti, inclusione di caratteristiche morfologiche chiave, classificazione appropriata e diagnosi differenziale*.

GPT-4V: Diagnosi più complete con descrizioni dettagliate della morfologia cellulare, pattern architetturali e ampie diagnosi differenziali
Claude 3.7: Buone descrizioni ma talvolta con meno dettagli morfologici specifici e diagnosi differenziali più limitate

Coerenza. *Coerenza tra interpretazione visiva delle immagini e diagnosi finale, consistenza con il contesto clinico e i dati forniti*
GPT-4V: Maggiore coerenza tra interpretazione visiva e diagnosi finale, particolarmente evidente nei casi di lesioni ossee e cutanee
Claude 3.7: Alcune incoerenze in particolari tipi di lesioni, specialmente nei casi ossei, con interpretazioni visive meno allineate alla diagnosi finale

Chiarezza. *Presentazione chiara e strutturata della diagnosi, uso appropriato della terminologia, facilità di comprensione*
GPT-4V: Organizzazione gerarchica delle informazioni, definizioni chiare, buon bilanciamento tra dettaglio tecnico e accessibilità
Claude 3.7: Spiegazioni concise, buona terminologia ma talvolta con struttura meno organizzata e minori dettagli esplicativi

Utilità Clinica. Applicabilità *nella pratica clinica, suggerimenti diagnostici pertinenti, indicazioni per esami complementari, valore per il processo decisionale*
GPT-4V: Maggiore utilità clinica con suggerimenti specifici per esami aggiuntivi, percentuali di confidenza per diagnosi differenziali, implicazioni prognostiche. Molto utile nella didattica , grazie alla presentazione grafica dei passi eseguiti.
Claude 3.7: Diagnosi utilizzabili ma con meno approfondimenti clinicamente rilevanti e minori indicazioni per il follow-up.

Casi Rappresentativi: Analisi Qualitativa.

Caso 08 : Sarcoma embrionale del fegato
GPT-4V Diagnosi: Lesione compatibile con neoplasia epatica aggressiva pediatrica - Sarcoma epitelioide o mesenchimale (diagnosi principale). Caratteristiche qualitative: Diagnosi completa con ampia diagnosi differenziale, terminologia specifica, caratteristiche isto morfologiche dettagliate. Valutazione: Corretto (con IHC: Sarcoma embrionale epatico, 95%)
Claude 3.7 Diagnosi: Epatoblastoma epiteliale/misto (85%), Epatoblastoma tipo piccole cellule indifferenziato (80%), Sarcoma embrionale indifferenziato del fegato (70%) Caratteristiche qualitative: Diagnosi meno dettagliata, buona diagnosi differenziale ma con

terminologia meno specifica Valutazione: Corretto (con IHC: Sarcoma embrionale indifferenziato del fegato, 95%)

Caso 17: Cisti ossea benigna di tipo aneurismatico

GPT-4V Diagnosi: Cisti Ossea Aneurismatica (ABC) 75%, Istiocitosi a cellule di Langerhans (20%) Caratteristiche qualitative: Diagnosi corretta, descrizione accurata delle caratteristiche morfologiche, correlazioni clinico-patologiche appropriate. Valutazione: Corretto

Claude 3.7 Diagnosi: Istiocitosi a Cellule di Langerhans (LCH) con coinvolgimento del femore destro. Caratteristiche qualitative: Diagnosi errata, meno dettagli morfologici, minore coerenza tra le caratteristiche osservate e la diagnosi proposta. Valutazione: Errato

Conclusioni dell'Analisi Qualitativa



GPT-4V ha dimostrato performance qualitative superiori in tutte le dimensioni analizzate

La completezza diagnostica è risultata significativamente migliore in GPT-4V, con descrizioni morfologiche più dettagliate

La coerenza tra L'interpretazione visiva e la diagnosi finale è stata il punto di maggiore differenza (90% vs. 75%)

La chiarezza è stata la dimensione con minor divario tra i due modelli (85% vs. 80%)

L'utilità clinica delle diagnosi di GPT-4V è risultata superiore (87% vs. 72%), con suggerimenti più rilevanti per il percorso diagnostico

Entrambi i modelli hanno mostrato un miglioramento significativo delle performance qualitative quando integrati con dati di immunoistochimica

6. Prospettive Future della Digital Pathology in Europa:

La Digital Pathology rappresenta un settore in rapida evoluzione che sta trasformando radicalmente l'approccio diagnostico in anatomia patologica. Il panorama europeo offre opportunità significative per lo sviluppo e l'implementazione di tecnologie innovative in questo campo, con particolare attenzione all'integrazione dell'intelligenza artificiale nei processi diagnostici. Questo lavoro disegnato ed eseguito in un approccio MVP , con l'obiettivo di sperimentare l'integrazione in un caso d'uso reale di Digital Pathology / Microscopia Confocale /AI , testando l'intero processo per poi svilupparlo in due direzioni principali :

1. Progetti di Ricerca e 2. La promozione di Startup come Spin Off Universitaria (6.2).

Per quanto riguarda i progetti di ricerca, seguendo i tantissimi bandi europei su Digitalizzazione della Sanità e AI, si potrebbe valorizzare la grandissima potenzialità dell'Anatomia Patologica di Univpm. Il Dipartimento di Anatomia Patologica dell'Università Politecnica delle Marche, con una produzione di 10.000 vetrini mensili (120.000 annuali), rappresenta un osservatorio scientifico unico per la digitalizzazione aprendo la strada ad azioni come : Creazione di un database istopatologico di 600.000 vetrini (solo 5 anni) ; Mappatura istopatologica regionale completa ; Sviluppo di ricerca traslazionale mediante integrazione di dati con **Impatto Scientifico e Didattico** con applicazione alla **Ricerca :** Analisi epidemiologiche molecolari ; Studio dell'evoluzione delle patologie ;Identificazione di nuovi biomarcatori o alla **Didattica :** Biblioteca digitale interattiva ; Simulazioni diagnostiche assistite da IA; Formazione su casistica reale . Utilizzando una Metodologia che include Approccio multidisciplinare; Integrazione di Digital Pathology e IA; Collaborazioni interdipartimentali e internazionali. Attraverso iniziative locali o Progetti Europei si può trasformare l'archivio in un patrimonio scientifico, aprendo nuove frontiere nella ricerca medica e nella formazione degli studenti.

6.1. Sviluppo di Progetti Europei: Dalla Ricerca all'Implementazione Clinica tra AI e Digital Pathology



6.1.1. Panoramica dei bandi per progetti di ricerca europei e nazionali in Digital Pathology

Iniziative strategiche dell'Unione Europea

IHI : Innovative Health initiatives

Horizon Europe: programmi dedicati all'innovazione in patologia digitale con focus su applicazioni di AI

EIT Health: iniziative di accelerazione per startup e scaleup nel settore della patologia digitale ,

EU4 Health: finanziamenti specifici per l'implementazione di tecnologie digitali nei sistemi sanitari nazionali

Progetti Marie Skłodowska-Curie: programmi di formazione per ricercatori in patologia computazionale .

Principali consorzi di ricerca e collaborazioni

BIGPICTURE: la più grande biobanca di immagini patologiche in Europa con oltre 3 milioni di vetrini digitalizzati .

AIDPATH: rete europea per l'implementazione standardizzata dell'AI in patologia digitale

EURO-PATHDIGIT: iniziativa per l'armonizzazione di standard tecnici e processi di validazione

6.1.2. Iniziative di collaborazione multicentrica

European Digital Pathology Infrastructure: creazione di repository federati di immagini patologiche https://cordis.europa.eu/project/id/824087

ELIXIR Pathology Node: integrazione della patologia digitale nell'infrastruttura bioinformatica europea https://elixir-europe.org/communities/human-data

Biobanks Europe: collegamento delle biobanche fisiche con archivi digitali di immagini patologiche https://www.bbmri-eric.eu/

Cloud europeo per la ricerca biomedica: risorse computazionali condivise per analisi di immagini ad alta complessità https://gaia-x.eu/what-is-gaia-x/domains/health/

EuroPath-Training: programmi di formazione standardizzati per patologi digitali

Pathology-on-Demand: modelli di servizio basati su cloud per centri con risorse limitate

6.1.3. Iniziative nazionali e regionali in Italia

Finanziamenti nazionali per la digitalizzazione sanitaria Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR): 15,63 miliardi di euro alla Missione Salute, con focus sulla digitalizzazione . M6C2: componente dedicata all'innovazione tecnologica con 4,05 miliardi per infrastrutture e

analisi dei dati sanitari . Programma "Marche Biotech": 7 milioni di euro per imprese innovative nelle scienze della vita . E-capital - Business plan competition & AC75 - Startup Accelerator di Ancona.

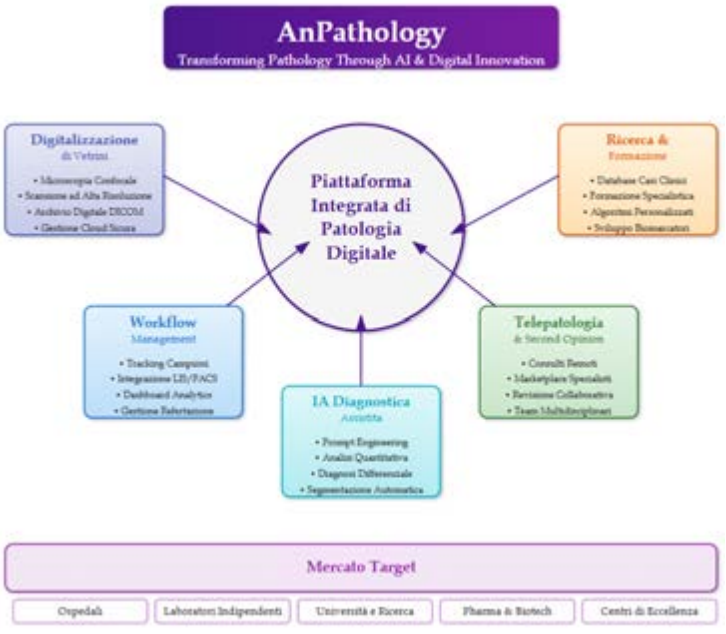
6.2. AnPathology: Uno Strumento AI-Driven per la Gestione Integrata dei Casi Clinici.

AnPathology si propone come una startup innovativa focalizzata sullo sviluppo di una piattaforma integrata di patologia digitale AI-driven, iniziando dalle attività in ambito di patologia pediatrica.

I risultati del nostro studio sperimentale (capitolo 5) forniscono una solida base di evidenze a supporto dell'approccio proposto da AnPathology. In particolare, l'accuratezza diagnostica raggiunta dai modelli di IA testati (84.2% per GPT-4V e 68.4% per Claude 3.7) dimostra il potenziale significativo di questi strumenti come supporto alla diagnosi . Questo lascia aperto il campo a modelli più avanzati, gestiti localmente e addestrati con dati di proprietà, anche per essere compliant con la normativa nazionale e quella europea come GDPR e EU AI Act. L'impatto cruciale dell'immunoistochimica, che ha portato l'accuratezza al 100% per entrambi i modelli, sottolinea l'importanza di un approccio integrato che combini diverse fonti di dati . La valutazione qualitativa delle performance dei modelli evidenzia aree di miglioramento che possono essere affrontate attraverso l'ottimizzazione del Prompt Engineering e lo sviluppo di interfacce utente intuitive. Questi risultati confermano la validità dell'approccio proposto da AnPathology e forniscono indicazioni preziose per lo sviluppo futuro della piattaforma, con particolare attenzione all'ottimizzazione dell'interazione tra patologo e IA attraverso il Prompt Engineering.

Visione e Missione

Visione: Trasformare la pratica della patologia diagnostica attraverso l'integrazione sinergica di microscopia confocale, patologia digitale e intelligenza artificiale.
Missione: Fornire soluzioni tecnologiche innovative per la digitalizzazione e l'analisi assistita da IA dei campioni istologici in tutte le specialità patologiche, supportando il processo decisionale dei patologi, facilitando la telepatologia, accelerando la formazione specialistica e migliorando l'accesso a diagnosi di qualità superiore per tutti i pazienti.



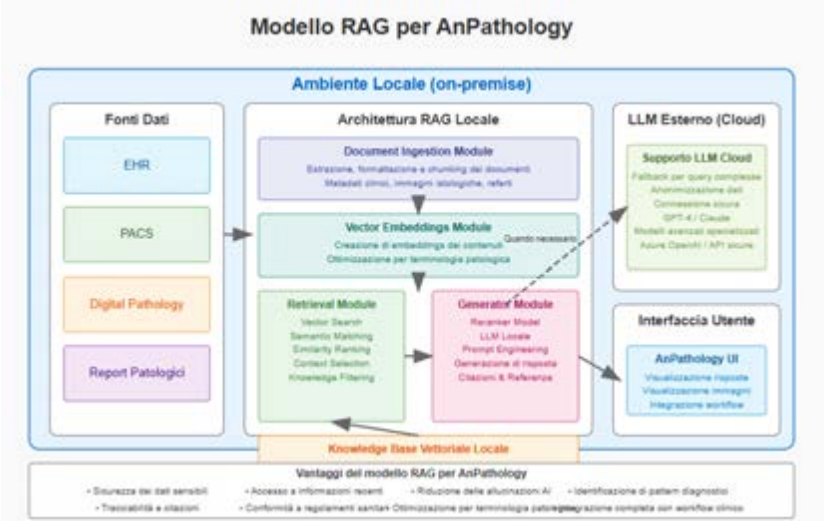
Business model

Digitalizzazione Completa di Archivi Patologici . Conversione di archivi analogici di vetrini in formato digitale ad alta risoluzione . Implementazione di sistemi avanzati di microscopia confocale (VivaScope 2500 M-G4). Archiviazione sicura, indicizzata e conforme al GDPR in formato DICOM. Soluzioni scalabili

da piccoli laboratori a grandi centri ospedalieri .

Piattaforma Integrata di Gestione del Workflow. Sistema end-to-end dalla ricezione del campione alla refertazione finale. Interoperabilità con sistemi LIS, PACS e cartelle cliniche elettroniche. Dashboard personalizzabili per monitoraggio in tempo reale dei KPI diagnostici . Tracciabilità completa del campione e gestione della catena di custodia . A seguire una struttura tipo adattata da modelli pubblicati sul NEJM AI (1, 2)

Suite di IA per Diagnostica Assistita. Sistema di prompt engineering avanzato adattabile a diverse specialità patologiche. Integrazione con modelli personalizzati. Supporto alla diagnosi con analisi quantitativa, segmentazione automatica e diagnosi differenziali.



Rete di Telepatologia e Consulenze Specialistiche. Piattaforma cloud sicura per consulti sincroni e asincroni. Marketplace per second opinion da specialisti internazionali .Sistema di assegnazione intelligente dei casi in base alle expertise richiesta .Possibilità di consulti multidisciplinari con oncologi, radiologi e altri specialisti

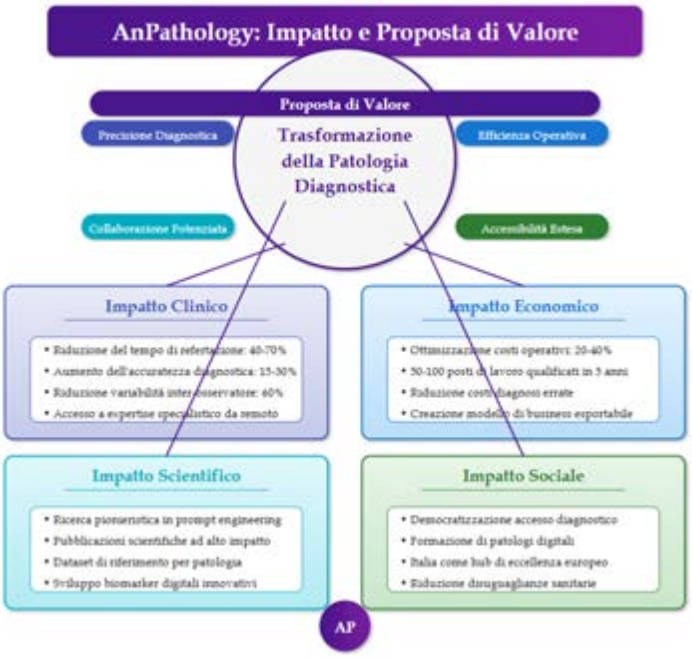
Programmi di Ricerca e Formazione. Piattaforma educativa per formazione di patologi, specializzandi e tecnici. Database anonimizzato di casi clinici per training e ricerca. Simulazioni diagnostiche avanzate per certificazioni e aggiornamento continuo. Servizi di co-sviluppo per nuovi algoritmi e biomarker digitali .

AnPathology Value Proposition.

La proposta di valore di AnPathology si articola su questi pilastri fondamentali:

Rapidità Diagnostica: Riduzione dei tempi diagnostici da 48-72 ore a pochi minuti .

Precisione Aumentata: Incremento dell'accuratezza diagnostica attraverso l'implementazione di sistemi RAG (Retrieval-Augmented Generation) specializzati in patologia digitale. I*ntegrazione:* Connessione fluida tra sistemi PACS, EHR e microscopia confocale, superando le barriere tecnologiche che attualmente limitano l'adozione



della patologia digitale. Approccio Integrato Multi-Specialità. Soluzione completa che copre tutte le specialità patologiche. Architettura modulare adattabile a diverse esigenze e dimensioni organizzative. Capacità di integrare dati multimodali (istologia, immunoistochimica, dati molecolari). Tecnologia di Prompt Engineering Proprietaria. Framework avanzato per ottimizzare l'interazione patologo-IA. Prompt specializzati per diverse entità patologiche e scenari diagnostici . Capacità di apprendimento continuo dai feedback dei patologi. Inoltre proporremo, *Validazione Clinica Rigorosa , Ecosistema di Collaborazione, Scalabilità Tecnologica* . Architettura cloud-native con elevata sicurezza . Capacità di gestire da poche centinaia a milioni di casi all'anno .Implementazione rapida con minimo impatto sui sistemi esistenti .

Piano di Sviluppo.

Fondazione e Validazione Digitalizzazione dati. Espansione del Portfolio . Estensione a nuove specialità patologiche (dermatologia, ematologia, neuropatologia). Lancio della piattaforma di telepatologia e del marketplace per second opinion. Espansione a 10-15 centri ospedalieri in Italia. Sviluppo di moduli specializzati per analisi quantitativa e biomarker digitali. Fase 3: Scalabilità ed Espansione Geografica.



Modello di Ricavi : Servizi Base (Subscription Model) , Servizi Premium e Pay-per-Use , Formazione e Professional Services

Riferimenti bibliografici:

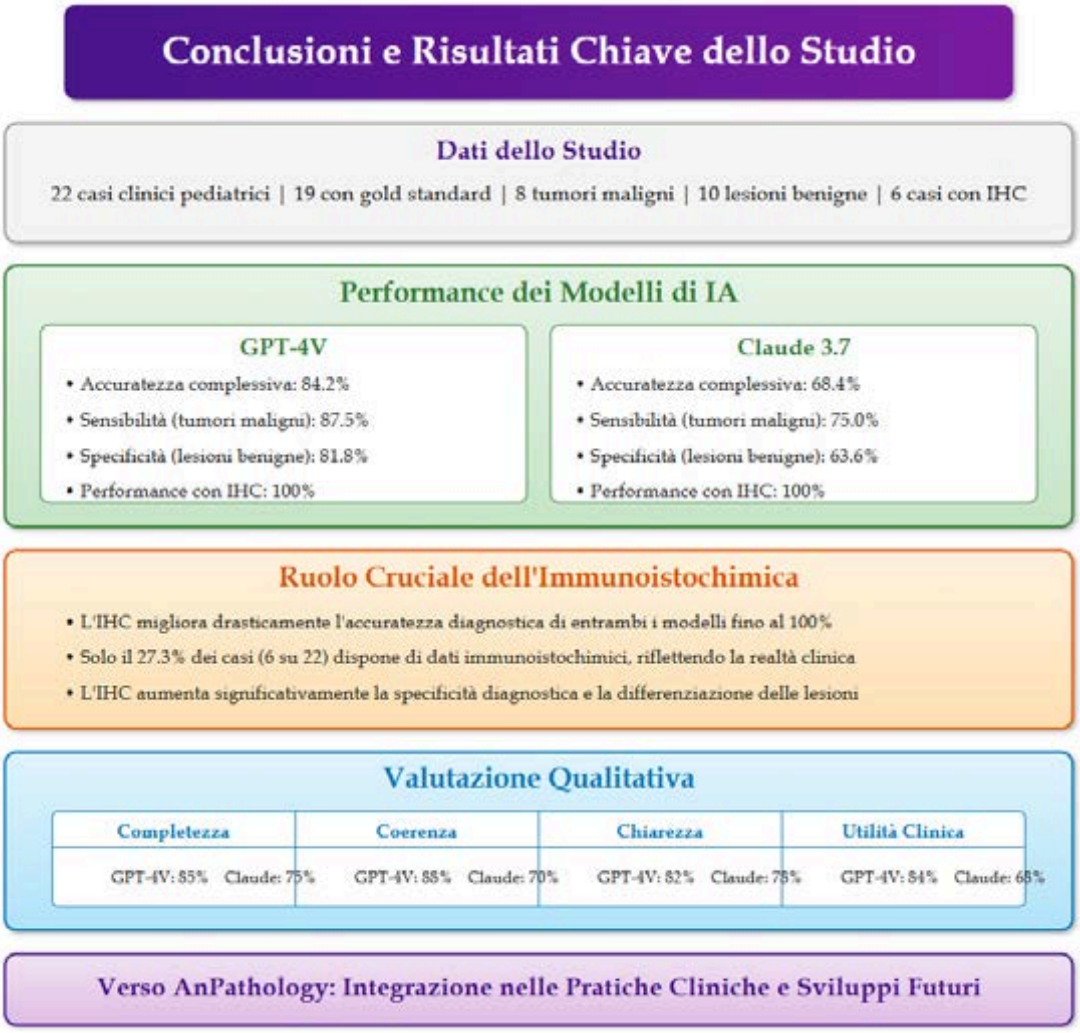
1. Ng KKY, Matsuba I, Zhang PC. RAG in Health Care: A Novel Framework for Improving Communication and Decision-Making by Addressing LLM Limitations. NEJM AI. 2025;2(1). (Iq.p)
2. Unlu O, Shin J, Mailly CJ, et al. Retrieval-Augmented Generation–Enabled GPT-4 for Clinical Trial Screening. NEJM AI. 2024;1(7). (Iq.P)

Capitolo 7: Conclusioni e Direzioni Future

7.1. Riepilogo dei Risultati Chiave Ottenuti dallo Studio

Lo studio ha indagato le potenzialità dell'integrazione tra patologia digitale, microscopia confocale e intelligenza artificiale nel contesto della patologia chirurgica pediatrica, focalizzandosi sul miglioramento dell'interazione patologo-IA mediante tecniche di prompt engineering. Lo studio è stato effettuato con due modelli commercialmente tra i più presenti, **GPT-4V** (OpenAI) - Piano Plus e **Claude 3.7 Sonnet** (Anthropic) - Piano Professional. Il lavoro inserito in uno studio approvato dal Comitato Etico Regionale delle Marche ha previsto l'utilizzo di dati anonimizzati a scopi di ricerca e conformità con le normative sulla privacy (GDPR, EU AI Act) . L'approccio si è concentrato su: Ottimizzazione dell'interazione patologo-IA ; Tecniche di prompt engineering ; Analisi comparativa delle performance diagnostiche .

Come abbiamo spiegato nel capitolo 6, paragrafo 2 in un eventuale utilizzo clinico n un eventuale utilizzo clinico, si prevede: Utilizzo di modelli in ambiente locale con garanzie aggiuntive su privacy e copyright in piena compliance normativa



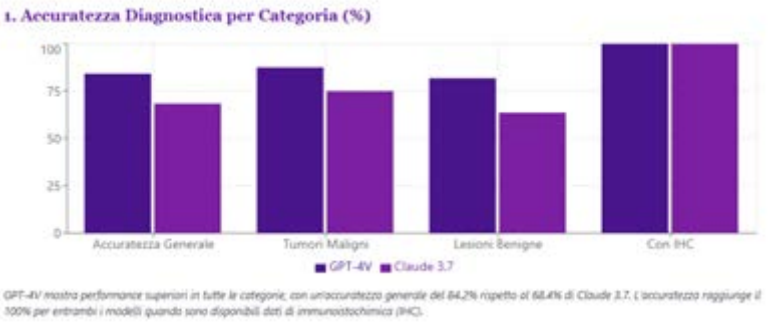
Il lavoro è stato svolto in modalità di prototipo o MVP *(Minimal Viable Product)* con testing di un percorso prototipo funzionale ; Concentrazione su funzionalità essenziali ; Verifica rapida delle ipotesi di ricerca

L'obiettivo principale è stato esplorare le potenzialità dell'integrazione tra patologia digitale, microscopia confocale e intelligenza artificiale, utilizzando un campione rappresentativo ma circoscritto. Ci siamo focalizzati sulla patologia pediatrica e microscopia confocale, perchè attualmente sono l'unica area che può mettere a disposizione vetrini digitalizzati. A seguire una breve descrizione dei risultati.

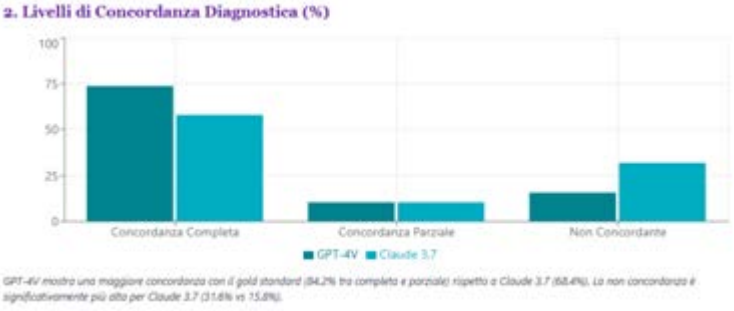
Analisi Quantitativa:
Gpt-4v /Claude 3.7
Accuratezza : 84.2% - 68.4%

Sensibilità : 87.5% - 75%

Specificità: 81.8% - 63.6%



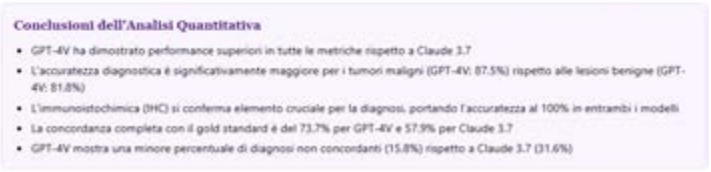
Entrambi modelli hanno un'accuratezza maggiore nelle lesioni maligne rispetto a quelle benigne, questo probabilmente dovuto al fatto che nella fase di addestramento dei loro algoritmi sono stati utilizzati principalmente data set oncologici. *(TCGA(The Cancer genome Atlas), Camelyon (Una delle Pathology Ai datasets), MIMIC II e III, o ClinicalTrials.gov)*



Concordanza 84,2% vs 68.4% . Gpt -4V utilizza una maggiore concordanza con il gold standard (84,2%) rispetto a Claude 3.7 (68,4). Questo fatto è chiarissimo nei casi con pochi o senza dati clinici. Questo è sicuramente dovuto alle differenze nella capacità di computer vision a favore di Gpt 4V.



LA presenza dei dati di analisi IHC porta l'accuratezza di entrambi i prodotti a 100%



Analisi Qualitativa.
Completezza. GPT-4V: Diagnosi più complete con descrizioni dettagliate della morfologia cellulare, pattern architetturali e ampie diagnosi differenziali
Claude 3.7: Buone descrizioni ma talvolta con meno dettagli morfologici specifici e diagnosi differenziali più limitate

Coerenza. GPT-4V: Maggiore coerenza tra interpretazione visiva e diagnosi finale, particolarmente evidente nei casi di lesioni ossee e cutanee
Claude 3.7: Alcune incoerenze in particolari tipi di lesioni, specialmente nei casi ossei, con interpretazioni visive meno allineate alla diagnosi finale

Chiarezza. GPT-4V: Organizzazione gerarchica delle informazioni, definizioni chiare, buon bilanciamento tra dettaglio tecnico e accessibilità
Claude 3.7: Spiegazioni concise, buona terminologia ma talvolta con struttura meno organizzata e minori dettagli esplicativi

Utilità Clinica (*Applicabilità nella pratica clinica, suggerimenti diagnostici pertinenti, indicazioni per esami complementari, valore per il processo decisionale)*
GPT-4V: Maggiore utilità clinica con suggerimenti specifici per esami aggiuntivi, percentuali di confidenza per diagnosi differenziali, implicazioni prognostiche
Claude 3.7: Diagnosi utilizzabili ma con meno approfondimenti clinicamente rilevanti e minori indicazioni per il follow-up.

Su questo punto vogliamo aggiungere un commento, alla domanda : Utilizzeresti questi strumenti per la pratica diagnostica medica quotidiana? No, almeno non nella forma attuale, ma non posso non conoscere e riconoscere le loro potenzialità , perché dovrò confrontarmi con pazienti che utilizzano questi strumenti, il più delle volte no nel modo adeguato. Il passaggio da Google a Chatgpt ha portato al cambio dell'offerta, da "Informazioni " a "Expertise" , e di questo un medico non può che tenere conto. Sicuramente sono utilizzabili già in questa forma per scopi di ricerca e didattica.

I modelli utilizzati in questo lavoro sono quelli più utilizzati al mondo, ma è in corso un cambiamento esponenziale con raddoppio delle performance ogni 12 mesi . L'uscita qualche settimana di un altro modello Open Source come Deepseek è stato considerato rivoluzionario al AI Summit a Parigi, *(Febbraio 2025)* . Riprendo l'analisi fatta da Robert Pearl *(analisi)* , su questo. Questa nuova AI, porta sul mercato un nuovo attore non solo perché costa molto meno addestrare il modello *(6 milioni / miliardi)* ma soprattutto perché utilizza reti esperte più piccole e specializzate . *(Mixture of experts: Instead of training a single massive neural network, DeepSeek divided its AI into smaller, specialized "expert" networks, each focused on a distinct subject area. This reduced the need for constant communication between GPUs and drastically lowered energy consumption)* .
Perciò se la domanda di prima fosse Utilizzerai Strumenti AI nella diagnostica clinica: risponderei , sicuramente si con i nuovi modelli, gestiti in autonomia in pieno rispetto Gdpr, Privacy e EU Ai Act *(Vedere modello nel cap.6.2)*. Può essere Gpt-n (Openai) o MedLM di

Google o qualunque altro prodotto. Con questo lavoro vogliamo dimostrare , che già oggi è possibile con ottimi risultati.

Conclusioni dell'Analisi Qualitativa

GPT-4V ha dimostrato performance qualitative superiori in tutte le dimensioni analizzate .

La completezza diagnostica è risultata significativamente migliore in GPT-4V, con descrizioni morfologiche più dettagliate .

La coerenza tra interpretazione visiva e diagnosi finale è stata il punto di maggiore differenza (90% vs. 75%)

La chiarezza è stata la dimensione con minor divario tra i due modelli (85% vs. 80%)



L'utilità clinica delle diagnosi di GPT-4V è risultata superiore (87% vs. 72%), con suggerimenti più rilevanti per il percorso diagnostico .

Entrambi i modelli hanno mostrato un miglioramento significativo delle performance qualitative quando integrati con dati di immunoistochimica .

7.2. Limiti della Ricerca e Possibili Approfondimenti Futuri

Limiti Metodologici . Nonostante i risultati promettenti, lo studio presenta diverse limitazioni che suggeriscono cautela nell'interpretazione e necessità di ulteriori approfondimenti .

Dimensione del campione: Il numero limitato di casi analizzati *(22 totali, 19 con gold standard)* rappresenta una significativa limitazione statistica, che impedisce generalizzazioni definitive. Studi futuri dovrebbero includere casistiche più ampie per confermare i risultati ottenuti.

Eterogeneità della casistica: La varietà di patologie incluse, se da un lato offre una panoramica della versatilità dei sistemi, dall'altro limita la possibilità di valutazioni approfondite su specifiche entità patologiche.

Variabilità nella disponibilità dei dati: La disomogeneità nella disponibilità di dati complementari *(IHC, dati clinici completi)* tra i diversi casi rappresenta un fattore confondente nell'analisi comparativa.

Assenza di una validazione esterna: I risultati non sono stati validati su dataset indipendenti o in diversi contesti clinici, limitando la generalizzabilità delle conclusioni.

Bias di selezione: La selezione dei casi, basata sulla disponibilità di materiale digitale adeguato, potrebbe aver introdotto un bias verso casi più facilmente interpretabili o con caratteristiche diagnostiche più evidenti.

Considerazioni sulla Privacy e Conformità Normativa

Un aspetto critico che necessita particolare attenzione riguarda le implicazioni relative alla privacy dei dati e alla conformità normativa:

Protezione dei dati sensibili: Sebbene lo studio sia stato condotto in conformità alle normative vigenti e con l'approvazione etica necessaria, l'implementazione su larga scala richiede protocolli robusti per garantire la protezione dei dati sensibili.

Conformità con il GDPR: L'integrazione di sistemi IA nella pratica clinica deve rispettare i requisiti del Regolamento Generale sulla Protezione dei Dati (GDPR), in particolare riguardo al consenso informato, alla minimizzazione dei dati e ai diritti degli interessati.

Impatto dell'EU AI Act: Il recente Regolamento europeo sull'Intelligenza Artificiale *(EU AI Act)* classifica i sistemi IA utilizzati in ambito sanitario come "ad alto rischio", imponendo requisiti rigorosi in termini di trasparenza, robustezza e supervisione umana. Qualsiasi sviluppo futuro in questo ambito dovrà conformarsi a tali requisiti.

Questioni di responsabilità: L'utilizzo dell'IA come supporto alla diagnosi solleva questioni complesse riguardo alla responsabilità professionale e legale in caso di errori diagnostici. Il quadro normativo attuale non offre ancora risposte definitive a tali interrogativi.

Conclusioni Finali

Il presente studio, pur con i limiti evidenziati, dimostra il potenziale trasformativo dell'integrazione tra patologia digitale, microscopia confocale e intelligenza artificiale nell'ambito della patologia chirurgica pediatrica. I risultati supportano la tesi che l'efficacia di tale integrazione dipende in modo cruciale non solo dalla qualità delle tecnologie coinvolte, ma soprattutto dall'ottimizzazione dell'interazione uomo-macchina.

L'approccio basato sul prompt engineering e sull'utilizzo di soluzioni accessibili a tutti, rappresenta un passo significativo verso una collaborazione più fluida ed efficace tra il patologo e i sistemi di IA, aprendo la strada a una nuova era della diagnostica anatomo-patologica in cui la tecnologia amplifica e potenzia l'esperienza e il giudizio clinico dell'anatomo-patologo.

La strada verso l'implementazione clinica di questi approcci richiede ulteriori ricerche, rigorosi processi di validazione e attenta considerazione delle implicazioni normative ed etiche. Tuttavia, i risultati ottenuti incoraggiano la prosecuzione di questo percorso, con la prospettiva di migliorare significativamente la qualità e l'efficienza della diagnosi patologica pediatrica.

Ringraziamenti.

Ringrazio la prof.ssa Gaia Goteri per il prezioso coordinamento e il costante supporto .
Sentiti ringraziamenti anche alla Dott.ssa Filosa Alessandra e Di Fabrizio Donatella per il loro contributo.

Un ringraziamento speciale alla mia famiglia:
Emily e Thomas: per la loro comprensione e pazienza .
Ela: mia moglie e compagna di vita, il cui sostegno incondizionato è stato determinante nel mio ritorno al percorso di studio
Il loro affetto e la loro comprensione sono stati il supporto più importante.