

ȘCOALA DOCTORALĂ

**AMPRENTA CITOLOGICĂ ȘI
IMUNOCITOLOGIA ÎN
DIAGNOSTICUL ȘI STADIALIZAREA
TUMORILOR PULMONARE**

REZUMAT TEZĂ DOCTORALĂ

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

PROF. UNIV. DR. DANIELA ADRIANA ION

DOCTORAND:

ALEXANDRA IOANA DIACONU

BUCUREȘTI

2017

Doresc să adresez mulțumiri și recunoștință, Doamnei Prof. univ. dr. Daniela Adriana Ion, conducătorul meu de studii doctorale, al cărui rol a fost esențial în acest studiu, deoarece a văzut potențialul amprente citologice și imunocitologiei ca metode alternative de diagnostic citologic în neoplaziile pulmonare, și care prin experiența și dedicarea dumneaei mi-a oferit șansa de a mă dezvolta profesional într-un mediu dinamic și competitiv.

Recunoștința mea se îndreaptă și către Clinica de Chirurgie Toracică a Institutului de Pneumoftiziologie „Marius Nasta” din București, fără de care acest studiu nu ar fi fost posibil, deoarece cu ajutorul lor au fost colectate probele bioptice analizate.

În mod particular țin să îi mulțumesc Doamnei dr. chim. Aneta Șerbescu, șefa Compartimentului de Citologie din cadrul Institutului de Pneumoftiziologie „Marius Nasta” și Departamentului de Anatomopatologie care mi-au pus la dispoziție timpul și resursele proprii în vederea realizării acestui studiu.

Acest studiu nu ar fi fost posibil fără susținerea permanentă a coordonatorului meu de rezidențiat Domnul Prof. univ. dr. Constantin Marica și colectivului secției Medicală I din cadrul Institutului de Pneumoftiziologie „Marius Nasta”, unde am găsit în permanență sfaturi și îndrumare, creând astfel un mediu propice pentru tinerii cercetători.

PARTEA GENERALĂ

I.NEOPLASMUL BRONHOPULMONAR

I.1. Date generale

Patologia neoplazică reprezintă principala cauză de mortalitate la nivel mondial fiind responsabilă de 8.2 milioane de decese în 2012, dintre care 1,59 milioane au survenit din cauza cancerului pulmonar. [1]

În România în anul 2014, din totalul de 254.000 de decese, 19,8% au fost cauzate de patologia neoplazică. Cancerul pulmonar și de căi respiratorii a reprezentat principala cauză de mortalitate la bărbați, 27% din totalul neoplaziilor și a 3-a cauză de mortalitate la femei, după cancerul de sân și cel colo-rectal. Tot în acest an, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a înregistrat 11.644 de cazuri noi de cancer bronhopulmonar (CBP) diagnosticate[2] .

CBP sunt global clasificate din punct de vedere clinic, histologic și terapeutic în două categorii majore: cancerle bronhopulmonare non-microcelulare (NSCLC- non small cell lung cancer) și cancerle bronhopulmonare microcelulare (SCLC- small cell lung cancer).

Cancerul bronhopulmonar non-microcelular reprezintă un ansamblu heterogen de tipuri celulare diferite, fiind la rândul lui împărțit în funcție de tipul histologic în carcinom scuamos, adenocarcinom, carcinom cu celule mari, fiind cele mai des întâlnite tipuri celulare, sau mai rar, carcinom adenoscuamos, sarcomatoid sau carcinoid.

I.2 Etiologie

Principali factori de risc incriminați de apariția cancerului pulmonar sunt reprezentați de expunerea la fumul de țigară, la substanțe carcinogene ocupaționale sau domestice, alimentația sau predispoziția genetică pro-oncogenă.[3]

I.3 Examen clinic

Manifestările clinice în tumorile bronhopulmonare sau mediastinale depind de localizarea acestora, tipul histologic sau stadiul bolii.

În stadiile incipiente manifestările clinice pot să fie inexistente, iar diagnosticul să survină întâmplător, la efectuarea unei radiografii pulmonare de rutină. Însă, de cele mai multe ori, apariția unui simptom duce la stabilirea unui diagnostic. [4]

Manifestările clinice generale precum starea generală alterată, astenia ușoară, fatigabilitatea discretă, scăderea toleranței la efort sau inapetența sunt simptome întâlnite în majoritatea patologiilor neoplazice și se accentuează pe măsură ce boala avansează. Printre

alte manifestări cu caracter general se numără pierderea ponderală, sindroamele febrile sau subfebrile însoțite sau nu de frisoane sau transpirații generalizate. [4]

Localizarea tumorii influențează tipul de semne sau simptome care pot să apară. Tumorile centrale sunt deseori însoțite de tuse, dispnee, wheezing, hemoptizie, atelectazie sau pneumonie, în timp ce localizarea periferică poate fi însoțită de revărsat pleural.

II. STADIALIZARE TNM

Stadializarea TNM în cancerul bronhopulmonar, propusă în anul 2007 și revizuită în 2010 de către Goldstraw. [5]

Această stadializare definește T, N, M, după cum urmează:

Tumora primară (T)

T_x – tumora primară nu poate fi evaluată sau evidențiată prin metode imagistice și bronhoscopice, deși apar celule tumorale la nivelul sputei sau lavajului bronșic.

T₀ – nu poate fi evidențiată tumora primitivă

T_{is} – tumora in situ

T₁ - tumoră mai mică sau egală cu 30 mm. T₁ a fost subîmpărțit în T_{1a} (tumoră cu dimensiuni mai mici de 20 mm) și T_{1b} (tumoră cu dimensiuni între 20 și 30 mm), dar nu există semnificație statistică de supraviețuire mai mare pentru T_{1a}.

T₂ - tumoră cu dimensiuni cuprinse între 30 și 70 mm. T₂ a fost subîmpărțit în T_{2a} (tumoră cu dimensiuni între 30 și 50 mm) și T_{2b} (tumoră cu dimensiuni între 50 și 70 mm)

T₃ - tumoră cu dimensiuni mai mari de 7 cm sau care poate invada pleura parietală și mediastinală, peretele toracic, diafragma, nervul frenic sau pericardul parietal.

T₄ - tumoră indiferent de dimensiunea ei, care invadează una dintre următoarele structuri: trahee, mediastin, vase mari, cord, esofag, corp vertebral, nodul pe alt lob ipsilateral.

Ganglioni limfatici regionali (N)

N_x - Ganglionii regionali imposibil de evaluat sau evidențiat;

N₀ - Fără metastazare la nivelul ganglionilor limfatici regionali;

N₁ – Metastazare pozitivă în ganglionii intrapulmonari, peribronșici ipsilaterali sau hilari ipsilaterali, sau ganglionii peribronșici / hilari ipsilaterali sunt invadați direct de extensia tumorii primare;

N₂ - Metastazare pozitivă în ganglionii ipsilaterali mediastinali sau subcarinali;

N3 - Metastaze în ganglionii controlaterali mediastinali, hilari controlaterali sau în ganglionii scaleni ori/și supraclaviculari ipsi/controlaterali. Invazie tumorală în nodulii limfatici mediastinali controlaterali, scalenici sau supraclaviculari; alți noduli limfatici: axilari, inghinali etc. sunt clasificați M1.

Metastaze la distanță (M)

Mx - Prezența metastazelor la distanță nu poate fi evaluată;

M0 - Nu există metastaze la distanță;

M1 - Metastaze la distanță prezente. În funcție de localizarea metastazei M1 se divide în : M1a – nodul tumoral într-un lob controlateral sau citologie pozitivă în lichidul pleural sau pericardic; și M1b – determinări secundare la distanță.

III.DIAGNOSTIC DIFERENȚIAL

Semnele și simptomele cancerului pulmonar sunt multiple și vaste, iar diagnosticul diferențial al nodulilor/tumorilor pulmonare include multiple patologii cu caracter atât benign cât și malign.

Cele mai frecvente tumori benigne incluse în diagnosticul diferențial al neoplaziilor pulmonare sunt: abcesul pulmonar, embolul septic, pneumonia fungică, pneumonia parazitară, tuberculoza, granulomatoza, sarcoidoza, pneumoconioza sau malformațiile pulmonare arterio-venoase. Printre tumorile maligne care sunt incluse în diagnosticul diferențial al neoplaziilor pulmonare sunt metastazele pulmonare, sarcomul Kaposi sau limfomul.[5]

IV.METODE DE DIAGNOSTIC

Diagnosticul paraclinic are ca obiective: stabilirea diagnosticului, stabilirea tipului histologic în vederea unui tratament corect și stabilirea nivelului de invazie atât locală cât și la distanță.

Prognosticul în cazul neoplasmului bronhopulmonar depinde de stadiul bolii în momentul diagnosticului. Rata de supraviețuire la 5 ani este de 60% la pacienții diagnosticați în stadiu precoce, chiar 90% la cei în stadiul Ia și de 5% la cei în stadiul IV.[6]

Algoritmul de diagnostic al tumorilor pulmonare și ale mediastinului cuprinde: examenul radiologic, examenul CT, RMN, PET-CT, bronhoscopia, citologia sputei și alte

metode care vin în ajutorul acestora. pentru a completa investigațiile necesare stadializării tumorii și a indicației chirurgicale. [7]

IV.1 Tehnici imagistice

Examenul radiologic reprezintă investigația primară în diagnosticul NBP, radiografia pulmonară fiind cea mai accesibilă deseori pune diagnosticul. Aceasta este completată de tomografia computerizată (CT) sau rezonanța magnetică nucleară (RMN) în vederea stadializării și urmăririi bolii.

IV.2 Tehnici invazive non-chirurgicale

În diagnosticul maselor tumorale și determinarea infiltrării ganglionilor mediastinali, standardul de aur este reprezentat de metodele minim-invazive, atât cele non-chirurgicale cât și cele chirurgicale.

Metodele non-chirurgicale permit diagnosticarea formațiunilor mediastinale și bronhopulmonare, fără a forma spații virtuale, chirurgicale, ci la nivelul lumenelor și orificiilor deja existente (esofag, trahee, bronhii), prin introducerea până în vecinătatea maselor tumorale a unor fibroscopie cu ace de puncție. Acestea sunt identificate inițial imagistic. Avantajele acestor metode minim-invazive sunt reprezentate de: morbiditate și mortalitate reduse, valoare predictivă pozitivă și valoare predictivă negativă mari.[8]

Bronhoscopia permite vizualizarea directă a arborelui traheo-bronșic, fiind metoda de elecție în evaluarea macroscopică a modificărilor de la acest nivel. Ea este completată de investigații precum puncție, biopsie, brosaj, lavaj și altele, care permit punerea unui diagnostic citologic sau histologic, minimalizând astfel riscurile la care este supus pacientul și grăbind semnificativ diagnosticul.

Aspirația trans-bronșică cu ac fin (TBNA - Transbronchial needle aspiration) este folosită doar în cazul ganglionilor mari deoarece este o manevră oarbă, dependentă de operator, efectuată doar cu ghidaj imagistic. [8]

EBUS-FNA (endobronchial ultra-sound fine needle aspiration) sau biopsia trans-bronșică cu ac fin ghidată ultrasonografic a apărut ca o dezvoltare a biopsiei trans-bronșice cu ac fin și o paralelă a biopsiei trans-esofagiene cu ac fin ghidată ultrasonografic. Tehnica presupune introducerea cu ajutorul unui fibroscop un ac de biopsie ghidat ultrasonic, și, astfel, se pot obține biopsii din zonele pretraheale, laterotraheale, subcarinal și peribronșice.

Aspirația trans-toracică cu ac fin (TTNA – transthoracic needle aspiration) reprezintă o metodă de diagnostic în multiple afectări pulmonare și necesită ghidaj imagistic cu

ultrasunete sau computer tomograf. Alegerea locului de puncție depinde în mare parte de caracteristicile leziunii și locația acesteia.

IV.3. Tehnici invazive chirurgicale

Mediastinoscopia reprezintă standardul de aur în diagnosticarea și stadializarea tumorilor cu interesare pulmonară și mediastinală. În cazul adenopatiilor masive N2-N3 decelate cu ajutorul examenului CT sau PET, datorită riscurilor mai scăzute se preferă metode mai puțin invazive, precum biopsia trans-bronșică pe ac fin ghidată ecografic sau biopsia trans-esofagiană ghidată ecografic, atunci când este posibilă. Selecția procedurilor folosite este dependentă de operator, experiența și resursele instituției, dar și starea generală a pacientului.[9]

Toracosopia sau chirurgia toracică video-asistată presupune explorarea mediastinului dinspre lateral a cavității toracice, disecând pleura mediastinală și prelevând țesutul patologic necesar. Spre deosebire de alte metode minim invazive, acestea sunt grevate de o morbiditate și de complicații mai mari, însă ea poate fi utilă în evaluarea stațiilor ganglionare 5 și 6 sau din mediastinul posterior.[10]

IV.4 Amprenta citologică

Amprenta citologică este o tehnică de examinare în timp real a morfologiei celulare a țesuturilor prelevate intraoperator sau periintervențional.

Procedura de efectuare a unei amprente citologice este relativ simplă. Excesul de sânge, ser fiziologic sau altfel de fluide corporale este îndepărtat cu grijă cu un tifon uscat de pe piesa rezecată pentru a facilita adeziunea celulelor de suprafața lamei de sticlă. [11] Ulterior se presează fin țesutul proaspăt biopsiat pe o lamelă, fără a apăsa sau a efectua o mișcare de alunecare, deoarece aceasta poate denatura forma celulară, urmată de colorare cu hematoxin-eozină și fixare cu alcool etilic în concentrație 95% timp de 5-6 secunde. [12]. În cazul suspiciunii diagnosticului de limfom non-Hodgkin se suplimentează colorația amprente ganglionare cu Giemsa, iar în cazul suspiciunii unei infecții tuberculoase se utilizează Ziehl-Neelson.[13]

Rezultatele obținute prin amprentare sunt interpretate de anatomopatolog și corelate cu rezultatele histopatologice ale acelorași țesuturi, atât înghețate și studiate la microscop, cât și fixate în formaldehidă 10% și, ulterior, montate în parafină.[14]

Frotiurile sunt analizate la diferite puteri ale microscopului optic (40x, 100x, 400x). Suplimentar, lamele pot fi imersate în soluție standard de citrat de sodiu timp de 3 minute la 77 de grade Celsius și apoi tratate cu soluție cu proteaze. După digestia proteazelor, probele

sunt deshidratate succesiv și, după 24 de ore, aplicată metoda hibridizării fluorescente in situ a lamelor prin multicolorarea LAVysion cu 4'6-diamidină-2-fenilindol dihidroclorid, 10μL per frotiu, și analiza ulterioară sub microscop cu fluorescență cu filtre adecvate, cu spectru verde și spectru portocaliu. [15]

IV.5. Imunocitologia

Imunocitologia cuprinde două tehnici principale: imunofluorescența și metoda imunoperoxidazei. Deși imunofluorescența este o metodă des folosită, metoda imunoperoxidazei câștigă teren, deoarece prezintă ca avantaje faptul că țesutul se fixează în formalină și este inclus în parafină, fără a fi necesară secționarea la gheață, iar probele sunt permanente și ușor de depozitat.[16]

Evaluarea neoplasmelor pulmonare presupune determinarea tipului histologic, gradului de diferențiere și locul de origine al acestora. Examenele imunologice permit diagnosticul diferențial între NSCLC și SCLC, dar și între diferitele tipuri de NSCLC, element critic în stabilirea terapiei oncologice.

Diagnosticul diferențial al diferitelor tipuri de NSCLC poate fi problematic. Carcinomul bronho-alveolar pune probleme în diagnosticul diferențial atât cu alte forme de carcinom (adenocarcinomul, hiperplazia adenomatoasă atipică sau metastaze pulmonare ale unui cancer colonic primitiv), cât și cu diferențierea între forma mucinoasă față de cea non-mucinoasă. Markerii imunologici folosiți în diagnosticul carcinomului bronhalveolar sunt reprezentați de: citokeratina 7 - CK7 (pozitivă în > 90% din adenocarcinoame, inclusiv carcinom bronhoalveolar, dar slab pozitivă în metastazele cancerului de colon), citokeratina 20 - CK20 (pozitivă în până la 90% din cazuri în formele mucinoase, mai puțin de 10% în cele non-mucinoase și extrem e sugestivă în metastazele pulmonare al cancerului colonic - 95%), CDX2 (marker sugestiv pentru adenocarcinoamele intestinale pozitivându-se în 97% din cazuri și care este negativ în carcinomul bronho-alveolar), TTF1 (pozitiv în peste 90% din carcinoamele bronhalveolare nonmucinoase și exceptional în cele mucinoase).[17]

IV.6 Examenul histopatologic

Cancerul bronhopulmonar prezintă o multitudine de forme histologice, apărând astfel necesitatea de a îl clasifica din punct de vedere anatomopatologic. De această împărțire depinde evoluția, tratamentul și prognosticul bolii. OMS a realizat o clasificare histologică a tumorilor pulmonare maligne în 2004, reprezentând varianta revizuita a clasificării anterioare din 1999. [18]

Cancerul pulmonar este clasificat în funcție de tipul histologic, rata de creștere tumorală dar și răspunsul la chimioterapice în două clase principale:

- cancerul pulmonar cu celule mici (SCLC, small cell lung cancer)
- cancerul pulmonar non-microcelular (NSCLC, non-small cell lung cancer)

Carcinomul pulmonar non-microcelular se clasifică după cum urmează:

- carcinomul scuamos (carcinom papilar, carcinom cu celule clare, carcinom cu celule mici, carcinom bazaloid)
- adenocarcinom (adenocarcinom mixt, adenocarcinom papilar, adenocarcinom acinar, carcinom bronhioalveolar, adenocarcinom solid mucipar)
- carcinom cu celule mari (carcinom neuroendocrin cu celule mari, carcinom bazaloid, carcinom limfoepiteliom like, carcinom cu celule clare, carcinom cu celule mari cu fenotip rabdoid)
- carcinom adenoscuamos
- carcinom sarcomatoid (carcinom pleomorf, carcinom cu celule fusiforme, carcinom cu celule gigante, carcinosarcomul, blastom pulmonar)
- carcinoid

PARTEA SPECIALĂ

V. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI

Acest studiu are ca scop *demonstrarea capacității de diagnostic a amprentei celulare, comparativ cu cea a examenului histopatologic, pe fragmente de țesut ganglionar în diagnosticul neoplaziilor pulmonare, cu scopul implementării acestei metode în practica curentă de diagnostic morfologic.*

Materialele biopsice obținute, vor fi supuse la 3 metode de diagnostic morfologic:

- amprenta celulară (metoda studiată),
- imunocitologia pe amprentă celulară (metoda studiată complementară)
- examen histopatologic (metoda de referință).

Obiectivele acestui studiu sunt:

1. demonstrarea capacității amprentei citologice de a evidenția caracterele maligne celulare
2. studierea și demonstrarea capacității de diagnostic a amprentei citologice în diagnosticul neoplaziilor pulmonare, prin compararea acesteia cu examenul histopatologic,
3. măsurarea sensibilității, specificității și acurateței de diagnostic al amprentei celulare comparativ cu examenul histopatologic,
4. analizarea capacității amprentei celulare de a diagnostica corect neoplaziile slab diferențiate,
5. utilitatea completării amprentei cu examenul imunocitologic în cazul probelor biopsice cu celule slab diferențiate.

Această metodă poate fi folosită în diagnosticul tipului celular al neoplaziilor pulmonare prin:

- stadializarea neoplasmelor bronhopulmonare prin analiza ganglionilor,
- identificarea celulelor cu caracter malign,
- diagnosticul intraoperator al acestora, înlocuind examenul extemporaneu.

VI. MATERIALE ȘI METODE

Acest studiu s-a desfășurat în cadrul Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, Departamentul de Fiziopatologie II și Institutul de Pneumoftiziologie “Marius Nasta”, în perioada ianuarie 2015 - aprilie 2016, având un caracter prospectiv.

Numărul total de pacienți incluși în studiu a fost de 128, aceștia fiind investigați clinic, biologic, imagistic, prin metode invazive non-chirurgicale (fibrobronhoscopie), metode chirurgicale minim-invazive (mediastinoscopie, toracoscopie și chirurgie video-asistată) sau invazive, în vederea stabilirii diagnosticului citologic și histopatologic și ulterior al conduitei terapeutice și post-terapeutice.

În lucrarea de față au fost efectuate investigații radiologice, computer tomografice, bronhoscopice și chirurgicale minim-invazive și invazive, cu prelevarea țesutului ganglionar mediastinal în vederea stabilirii diagnosticului prin metode citologice (amprenta citologică, analiza imunocitologică) și histopatologice.

Toți pacienții incluși în lotul studiat au fost supuși metodelor invazive non-chirurgicale (fibrobronhoscopie, puncție pleurală, biopsie pleurală) anterior celor chirurgicale, în vederea stabilirii diagnosticului histologic, însă fără confirmarea malignității.

Tuturor li s-a efectuat fibrobronhoscopie completată în funcție de aspectul endobronșic, de lavaj bronho-alveolar, aspirat bronșic, brosaj și/sau biopsie, la nivelul teritoriului afectat, dar examenul citologic sau histologic, nu a evidențiat celule tumorale sau a ridicat suspiciunea de neoplazie, însă fără a preciza tipul celular.

În vederea stabilirii unui diagnostic histopatologic de certitudine, s-a decis recurgerea la metode chirurgicale minim-invazive sau invazive, cu efectuarea unor biopsii ganglionare, care au fost supuse la 3 metode de diagnostic histologic: amprenta citologică (metoda studiată), imunocitologia pe amprentă celulară (metoda studiată complementară) și examen histopatologic (metoda de referință).

Criterii de includere:

- Vârstă peste 18 ani
- Prezența adenopatiilor mediastinale evidențiate imagistic (radiografie cardio-pulmonară + computer tomografie/ rezonanță magnetică) cu/fără afectare pulmonară parenchimotoasă, înalt sugestive pentru patologia neoplazică
- Absența unui diagnostic citologic/histologic concludent prin metode diagnostice non-invazive sau minim-invazive non-chirurgicale (bronhoscopie, puncție pleurală trans-toracică)

Criterii de excludere:

- Prezența unui diagnostic de neoplazie cunoscut în antecedente
- Prezența comorbidităților care contraindică intervenția chirurgicală și anestezia generală

La toate cazurile incluse în acest studiu s-a efectuat intervenția chirurgicală în cadrul Clinicii de Chirurgie Toracică a Institutului de Pneumoftiziologie “Marius Nasta”. Metodele chirurgicale efectuate au fost reprezentate de mediastinoscopie, video-mediastinoscopie, toracotomie cu lobectomie și toracotomie cu pneumectomie.

VII.REZULTATE

VII.1. Caracteristicile lotului studiat

În lotul studiat au fost înrolați 128 de pacienți, cu vârstă peste 18 ani, din care 64% (82 pacienți) sunt bărbați și 36% (46 pacienți) femei. Există o predominanță a pacienților proveniți din mediul urban (87 de cazuri, din care 54 de bărbați și 33 de femei), față de mediul rural (41 de cazuri din care 28 de bărbați și 13 femei).

Media de vârstă a pacienților incluși în lotul studiat este de 57,3 ani, cu o frecvență maximă în intervalul 61-70 ani (40 cazuri, 31,25%) și minimă > 80 ani (1 caz, 0,78%).

Repartiția pe grupe de vârstă a fost următoarea: 5% din pacienți din grupa de vârstă 21-30 ani, 6% din grupa 31-40 ani, 16% din grupa 41-50 ani, 28% din grupa 51-60 ani, 31% din grupa 61-70 ani, 13% din grupa 71-80 ani și 1% peste 80 ani.

Din totalul de 128 de pacienți, conform anamnezei, 79 sunt fumători sau foști fumători. Dintre aceștia, cei mai mulți sunt bărbați (60 cazuri, 75,9%), iar restul de 19 cazuri, (24,1%) sunt femei. Valoarea medie a pachetelor/an fumate în cadrul lotului de gen masculin este de 36,6 pachete/an, cu o minimă de 10 pachete/an și o maximă de 80 pachete/an, iar în cadrul lotului de gen feminin, valoarea medie este de 26,1 pachete/an, cu o valoare minimă de 5 pachete/an și maximă de 60 pachete/an.

În lipsa unui diagnostic citologic sau histopatologic al afectării pulmonare sau mediastinale, prin metode de diagnostic non-invazive și invazive non-chirurgicale, s-a recurs la intervenție chirurgicală cu scop diagnostic și/sau curativ. În cazul tuturor pacienților incluși în acest studiu, a fost efectuată intervenție chirurgicală minim-invazivă sau invazivă, în funcție de indicație.

S-a practicat chirurgie minim-invazivă în 59 din cazuri, efectuându-se 53 de mediastinoscopii și 6 video-mediastinoscopii și chirurgie invazivă în 69 din cazuri, din care 51 de toracotomii cu lobectomie și 18 toracotomii cu pneumectomie.

Chirurgia minim invazivă a fost practică în cazul tuturor adenopatiilor mediastinale fără afectare pulmonară sau cu afectare infiltrativă sugestivă pentru boli inflamatorii sau granulomatoase, dar care nu au putut fi demonstrate prin metode standard de diagnostic și a

tumorilor pulmonare extinse care au depășit indicația chirurgicală, dar era necesar un diagnostic histologic în vederea tratamentului oncologic.

VII.2. Diagnosticul histopatologic al adenopatiilor mediastinale

Din numărul total de biopsii ganglionare (128), la examenul histopatologic s-a evidențiat prezența celulelor maligne în 111 cazuri, iar în restul de 17 cazuri, celule cu caracter benign .

Cele 111 cazuri în care examenul histopatologic a evidențiat prezența celulelor cu caracter malign, sunt împărțite în funcție de tipul celular, în ordinea frecvenței de apariție, după cum urmează: adenocarcinom (55 cazuri, 43%), carcinom scuamos (22 cazuri, 17,2%), carcinom neuroendocrin cu celule mici (9 cazuri, 7%), limfom Hodgkin (7 cazuri, 5,4%), limfom non-Hodgkin (4 cazuri, 3,1%), carcinom cu celulă mare (4 cazuri, 3,1%), carcinom sarcomatoid (4 cazuri, 3,1%), carcinom tiroidian (3 cazuri, 2,3%), carcinom timic (1 caz, 0,8%), melanomului (1 caz, 0,8%) și hepatocarcinom (1 caz, 0,8%).

Se poate observa o incidență mai mare a adenocarcinomului, care reprezintă 43% din numărul total de biopsii ganglionare, urmată de carcinomul scuamos, 15,6% și carcinomul neuroendocrin cu celule mici 7%. De asemenea, se poate observa o incidență scăzută a neoplaziilor cu origine extra-pulmonară, sau a neoplaziilor pulmonare cunoscute ca având incidență mai redusă. Împreună, toate formele de NSCLC reprezintă 64% din totalul probelor analizate, în timp ce SCLC reprezintă doar 7%. Din restul de 29%, 13% sunt adenopatii cu caracter benign, iar restul de 16% neoplazii cu punct de plecare extrapulmonar.

Dintre toate cazurile neoplaziilor non-pulmonare, cel mai bine reprezentat rămâne limfomul, care reprezintă 10%.

VII.3. Diagnosticul citologic al adenopatiilor mediastinale prin metoda amprentei citologice

În cazul tuturor celor 128 de biopsii ganglionare, s-au efectuat:

- 1. diagnostic citologic prin metoda amprentei citologice,**
- 2. diagnostic histopatologic.**

Prin metoda amprentei citologice s-au diagnosticat 16 cazuri (12,5%) de adenopatii cu caracter inflamator și 112 cazuri (87,5%) cu caracter malign.

Cazurile diagnosticate ca fiind adenopatii reactive, nu au fost încadrate în anumite patologii, deoarece colorațiile efectuate pe lamele de amprentă au constatat în colorația rapidă de tip hematoxilină și eozină, care poate identifica granuloamele de tip sarcoidotic însă fără

completarea cu colorații specifice, poate rata diagnostice precum cele infecțioase sau pneumoconioze.

Cele 112 cazuri în care amprenta citologică a evidențiat prezența celulelor cu caracter malign din totalul celor 128 de probe analizate, sunt împărțite în funcție de tipul celular, în ordinea frecvenței de apariție, după cum urmează: adenocarcinom (70 de cazuri, 54,6%), carcinom scuamos (14 cazuri, 10,9%), carcinom neuroendocrin cu celulă mică (9 cazuri, 7%), limfom Hodgkin (7 cazuri, 5,4%), limfom non-Hodgkin (4 cazuri, 3,1%), carcinom tiroidian (3 cazuri, 2,3%), carcinom sarcomatoid (3 cazuri, 2,3%), carcinom timic (1 caz, 0,8%), carcinom cu celulă mare (1 caz, 0,8%), melanom (1 caz, 0,8%) și celule inflamatorii (16 cazuri, 12,5%)

Din totalul celor 112 probe (100%) diagnosticate de amprenta citologică ca maligne, se observă o incidență crescută a adenocarcinomului, acesta reprezentând 70 de cazuri (62,5%) din totalul probelor maligne. Carcinomul scuamos a fost identificat în 14 cazuri (12,5%) din cazuri, iar carcinomul neuroendocrin cu celulă mică în 9 cazuri (8%).

În lotul studiat, neoplaziile cu punct de plecare extrapulmonar, reprezintă 16% din totalitatea biopsiilor maligne identificate de amprenta citologică. Printre aceste neoplazii s-a identificat limfomul, care reprezintă 10% din totalitatea neoplaziilor, 6% limfomul Hodgkin și 4% limfomul non-Hodgkin. Carcinomul sarcomatoid și carcinomul tiroidian au fost identificate în 2% din totalul neoplaziilor, în timp ce carcinomul timic în 1% din cazuri.

Dintre tipurile celulare încadrate în patologie neoplazică NSCLC, adenocarcinomul se află pe primul loc, reprezentând 54,6% din totalul fragmentelor biopsice și 62,5% din totalul probelor identificate ca fiind maligne. Următorul după el, fiind carcinomul cu celule scuamoase, care reprezintă 10,9% din totalul biopsiilor ganglionare și 12,5% din cele maligne. Incidența este mai redusă în cazul probelor diagnosticate ca fiind determinări secundare ganglionare ale neoplaziilor cu origine extrapulmonară, acestea reprezentând între 0,8% și 2,3% din totalul probelor identificate ca fiind maligne.

Neoplaziile cu origine extrapulmonară, în afara limfomului sunt slab reprezentate, acestea nedepășind 2% din totalul probelor analizate prin metoda amprentei citologice.

Diagnosticul amprentei citologice a presupus întârzierea procesului de prelucrare histologică cu 5-10 minute, timp în care fragmentele biopsice au fost amprentate pe lamă și colorate ulterior cu colorație rapidă de tip hematoxin-eozină.

Ulterior lamele au fost analizate la un microscop optic. Prin această metodă simplă, citologul a diagnosticat conform caracteristicilor celulare specifice fiecărui tip de neoplazie pulmonară sau extrapulmonară, 9 cazuri de SCLC, 103 cazuri de NSCLC și 16 cazuri de

adenopatii reactive, probabil în context inflamator. Din cele 103 cazuri de carcinom non-microcelular, amprenta citologică a încadrat 70 de cazuri ca fiind adenocarcinom și 13 cazuri ca fiind carcinom scuamos.

VII.4. Studiul comparativ al amprentei citologice cu examenul histopatologic în stabilirea malignității prin analiza sensibilității și specificității metodei studiate

Plecând de la premisa că examenul histopatologic este gold standard-ul în diagnosticul patologiilor tumorale, am comparat rezultatele obținute prin amprenta celulară versus cele histopatologie.

Prin efectuarea metodelor de diagnostic morfologic s-a evidențiat diagnostic concordant între amprenta citologică și examenul histopatologic în 98,4% din cazuri.

Amprenta citologică a evidențiat prezența celulelor maligne în 87.5% cazuri și a celulelor benigne în 12.5% cazuri, în timp ce examenul histopatologic a evidențiat celule maligne de 111 dintre cazuri și celule benigne în 17 cazuri.

Astfel se observă o discordanță de diagnostic între cele 2 metode în 1 caz din numărul total de fragmente ganglionare biosiate. Cazul diagnosticat suspect malign prin amprenta citologică era reprezentat de un ganglion inflamator în cadrul unei patologii granulomatoase, care a fost interpretat ca atipie celulară și încadrat la cazurile maligne.

De cele mai multe ori supradiagnosticarea apare în procesele metaplazice, date de condiții de inflamație cronică. Uneori, chiar și limfocitul poate fi confundat cu celula neoplazică de dimensiuni mici, în principal prin asemănarea celor două în ceea ce privește friabilitatea celulară, cu atât mai mult când dimensiunile fragmentului biopsic sunt reduse.

Prin efectuarea calculelor de sensibilitate și specificitate se observă prezența unui diagnostic fals pozitiv interpretat de amprenta celulară pentru 1 caz din totalul de 128 examinate, cu o rată de diagnostic pozitiv de 100% și negativ de 94,1%.

Prin urmare, amprenta citologică are o sensibilitate de 100% și o specificitate de 94,1% în ceea ce privește identificarea atipiilor celulare și diferențierii între celula malignă și cea benignă.

De asemenea, alături de sensibilitate și specificitate, au fost calculate și valorile predictive pozitivă și negativă, care au evidențiat că amprenta celulară prezintă o valoare predictivă pozitivă de 99,1 % și negativă de 100% comparativ cu examenul histopatologic în ceea ce privește diagnosticul atipiei celulare.

VII.5. Studiul comparativ al amprente citologice cu examenul histopatologic în stabilirea principalelor tipuri de neoplazii intra-toracice

În lotul studiat au fost identificate de către amprenta citologică 16 cazuri de adenopatii cu caracter inflamator comparativ cu cele 17 identificate de examenul histopatologic. În cazul adenopatiilor cu caracter malign există o concordanță de diagnostic în cazul carcinomului cu celulă mică (9:9) și carcinomului timic (1:1) și melanomului (1:1), în timp ce 1 caz de limfom și 1 de carcinom care nu poate fi încadrat, au fost diagnosticate prin amprenta citologică ca fiind carcinom non-microcelular.

Analiza sensibilității amprente citologice comparativ cu examenul histopatologic în ceea ce privește principalele tipuri de neoplazii pulmonare, mediastinale și patologii inflamatorii cu răsunset mediastinal, evidențiază o sensibilitate de 100% în ceea ce privește carcinomul pulmonar cu celule mici, carcinomul pulmonar non-microcelular și melanomul. În cazul patologiilor inflamatorii ce determină adenopatii mediastinale, sensibilitatea metodei este de 94,1%, dată de un rezultat fals pozitiv al amprente citologice. Diagnosticul limfomului a fost evidențiat cu o sensibilitate de 91,7%, iar carcinoamele cu origine extra-pulmonară cu o sensibilitate egală cu 83,3%.

Analizând capacitatea amprente celulare de a diagnostica comparativ cu examenul histopatologic, principalele tipuri de neoplazii pulmonare și nu numai, se poate observa pe lotul studiat, că rata de diagnostic este identică în cazul carcinomului cu celulă mică și melanomului, există o ușoară subdiagnosticare în cazul carcinoamelor cu origine extra-pulmonară, limfomului și patologiilor inflamatorii pulmonare și o ușoară supradiagnosticare în cazul carcinomului non-microcelular.

VII.6. Studiul comparativ al amprente citologice cu examenul histopatologic în stabilirea tipurilor celulare ale neoplaziilor intra-toracice

Compararea metodei amprente citologice cu examenul histopatologic în ceea ce privește tipurile histologice ale neoplaziilor identificate în lotul studiat, evidențiază o similitudine de diagnostic în cazul carcinomului microcelular, limfomului și carcinoamelor cu origine extrapulmonară: tiroidian, timic și melanom. Restul tipurilor neoplazice au fost subdiagnosticate de către amprenta citologică și încadrate eronat ca fiind adenocarcinom.

Compararea metodei amprente citologice cu examenul histopatologic pe lotul studiat, a evidențiat următoarele concordanțe:

- carcinom cu celulă mică (9 cazuri AC : 9 cazuri HP)
- carcinom timic (1 caz AC : 1 caz HP)
- melanom (1 caz AC : 1 caz HP)

- limfom Hodgkin (7 cazuri AC : 7 cazuri HP)
- limfom non Hodgkin (4 cazuri AC : 4 cazuri HP)

De asemenea, au fost evidențiate și disconcordanțe de diagnostic între cele două metode în cazul:

- adenocarcinomului (70 cazuri AC: 55 cazuri HP),
- carcinomului sarcomatoid (3 cazuri AC: 4 cazuri HP),
- carcinomului scuamos (13 AC: 22 HP),
- carcinomului cu celulă mare (1 AC: 4 HP) și
- carcinomului hepatocelular (0 AC:1 HP) (figura 55).

Sensibilitatea amprentei citologice în diagnosticul tipului celular neoplazic, se observă o variație între 0% și 100%.

Sensibilitatea amprentei citologice este identică cu cea a examenului histopatologic în cazul carcinomului tiroidian, carcinomului timic și carcinomului cu celulă mică, atinge 96,4% în cazul adenocarcinomului, 75% în cazul carcinomului sarcomatoid, limfomului Hodgkin și non-Hodgkin și scade considerabil la 50% în cazul carcinomului scuamos și 25% în cazul carcinomului cu celulă mare.

Toate cazurile subdiagnosticate au fost interpretate greșit ca fiind adenocarcinom, cu excepția carcinomului cu celulă mare, unde din 3 cazuri nediagnosticate, 2 au fost interpretate ca adenocarcinom și unul ca fiind carcinom scuamos.

Sensibilitatea de diagnostic a amprentei celulare comparativ cu examenul histopatologic în ceea ce privește neoplaziile pulmonare este de 100% în cazul SCLC și între 25% - 96,5% în cazul NSCLC în lotul studiat. Din subtipurile de NSCLC, cea mai mare sensibilitate este în cazul adenocarcinomului 96,4%, iar cea mai mică în cazul carcinomului cu celulă mare, unde amprenta citologică a diagnosticat 1 caz din cele 4 (25%). Dintre neoplaziile cu origine extrapulmonară, sensibilitatea cea mai mare este în cazul carcinomului tiroidian – 100% și melanomului – 100%.

Deși numărul de cazuri diagnosticate ca fiind limfom Hodgkin și non-Hodgkin este identic între cele 2 metode de diagnostic, un caz a fost încadrat eronat scăzând astfel sensibilitatea amprentei citologice la 75%. Amprenta citologică nu a diagnosticat nici un caz de carcinom hepatocelular, deși examenul histopatologic a identificat 1 caz.

Concluzii:

1. concordanța de diagnostic de 100% între cele 2 metode, în cazul SCLC,
2. pentru NSCLC există o diferență de 3%,

3. examenul histopatologic a interpretat că 63% din totalul fragmentelor bioptice analizate fac parte din neoplaziile pulmonare de tip NSCLC, în timp ce amprenta citologică a interpretat 66% din totalul cazuri ca fiind NSCLC. Chiar dacă procentele dintre cele două sunt asemănătoare, se poate observa o discrepanță între subtipurile de NSCLC cel mai des întâlnite atât în acest studiu cât și în literatură: adenocarcinom și carcinom scuamos,

4. amprenta citologică a supradiagnosticat adenocarcinomul cu 11% și subdiagnosticat carcinomul scuamos cu 6%.

5. în ceea ce privește tipurile histologice ale neoplaziilor cu origine primară extrapulmonară, amprenta citologică a diagnosticat în proporție de 100% cazurile de carcinom tiroidian și timic, în timp ce carcinomul hepatocelular și cel sarcomatoid au fost subdiagnosticate.

Adenocarcinomul și carcinomul scuamos prezintă elemente caracteristice distincte precum semnele de keratinizare pentru carcinomul cu celule scuamoase, și arhitectura glandulară pentru adenocarcinom. Diagnosticul discordant între amprenta citologică și examenul histopatologic s-a fie din cauza fragmentul ganglionar prelevat, care a fost de dimensiuni reduse, fie gradului scăzut de diferențiere celulară. De menționat că o parte din aceste probe au fost încadrate în diferite tipuri celulare pe diagnosticul de suspiciune, fără a fi menționat un diagnostic de certitudine de către citolog.

În concluzie, sensibilitatea globală a amprentei citologice în diagnosticul SCLC este de 100%, NSCLC de 80%, iar în cazul tuturor neoplaziilor identificate în lotul studiat, de 88,3%.

VII.7. Testul de echivalență între amprenta citologică și examenul histopatologic

Pentru a demonstra capacitatea de diagnostic a amprentei citologice și a susține supoziția inițială prin care această metodă poate completa/ înlocui uneori examenul histopatologic, am aplicat testul de echivalență statistică între cele 2 metode.

Conform analizei comparative între amprenta citologică și examenul histopatologic care descrie o sensibilitate de 100% și o specificitate de 94,1% în identificarea malignității celulare, am decis aplicarea metodei de echivalență între cele două metode, pentru a cuantifica capacitatea diagnostică a amprentei citologice.

Plecând de la analiza primară și anume, capacitatea amprentei citologice de a distinge celula cu caracter malign față de cea cu caracter benign am aplicat testul McNemar și analiza statistică de echivalență, care a decelat caracterul non-inferior al metodei citologice față de

cea histopatologică în ceea ce privește analiza atipiei celulare. Conform analizei statistice, valoarea $p < 0,05$ în cazul testului McNemar.

În cazul diagnosticului specific al tipului de neoplazie și celularitatea acestuia, sensibilitatea amprente citologice este mai scăzută, cu precădere în cazul neoplaziilor hematologice sau cu origine extra-pulmonară, unde amprenta celulară nu mai reprezintă o metodă de încredere.

La aplicarea acestei metode pentru demonstrarea capacității amprente citologice de a stabili un diagnostic de celulă neoplazică, valoarea p este > 0.05 , prin urmare fără relevanță statistică.

Equivalence Test for Means	a	0.05
Equal Sample Sizes		
	<i>Examen histopatologic -atipie celulară</i>	<i>Amprenta citologică -atipie celulară</i>
Mean	1.1328125	1.125
Variance	0.116080217	0.11023622
Observations	128	128
Pooled Variance	0.113158219	
Hypothesized Mean Difference	0.078	
Df	254	
t Stat	-1.669	-2.0407861
P(T<=t) one-tail	0.048	0.021
T Critical one-tail	1.651	
P(T<=t) two-tail	0.096	
T Critical Two-tail	1.969	

În concluzie, studiul actual demonstrează că amprenta celulară este comparabilă examenului histopatologic în ceea ce privește identificarea caracteristicilor celulare sugestive pentru malignitate, însă capacitatea acesteia de a pune un diagnostic celular de certitudine este, deși mare, incomparabilă cu cea a examenului anatomopatologic.

VII.8. Studiul sublotului supus examenului morfologic complementar- imunocitologia

Pentru confirmarea diagnosticului sau creșterea acurateței, sensibilității și specificității s-a realizat imunocitologia pe amprenta citologică, ușurând astfel diagnosticul celulelor slab diferențiate și făcând posibilă încadrarea acestora într-un tip histopatologic.

Cele mai multe discrepanțe de diagnostic au fost întâlnite în cazul diferențierii carcinomului scuamos de adenocarcinom. În aceste cazuri imunocitologia, prin specificitatea sa crescută, crește rata de diagnostic.

Amprenta citologică a diagnosticat 15 cazuri de adenocarcinom, confirmate ulterior prin examenul histopatologic ca fiind carcinom scuamos.

În cele mai multe cazuri, distincția dintre adenocarcinom și carcinom cu celule scuamoase este ușor de realizat pe baza unor criterii morfologice standard, precum semnele de keratinizare pentru carcinomul cu celule scuamoase, și arhitectura glandulară pentru adenocarcinom. Cu toate acestea, distincția poate fi dificilă în unele tumori slab diferențiate, în cazul în care definirea caracteristicile glandulare sau scuamoase sunt subtile sau focale, cu atât mai mult în cazurile în care probele biopsice sunt dimensiuni reduse. [19][18]

Markerii imunologici (EMA, pancitokeratine 5, 6, 7, 8, 18, 19 și MOC-31) au fost aplicați pe 11 lame de amprentă citologică care au prezentat dificultate de diagnostic, prin caracterul slab diferențiat al neoplaziilor și absența caracteristicilor tipice pentru fiecare tip celular de neoplazie.

11 cazuri din totalul de 128 de probe analizate au identificate de amprenta citologică ca fiind slab diferențiate. Pe aceste probe slab diferențiate s-a aplicat imunocitologia în vederea diagnosticării sau confirmării unei suspiciuni preexistente, ridicate de amprenta citologică, dar fără un diagnostic de certitudine. Imunocitologia a evidențiat un diagnostic clar de celulă neoplazică în 7 cazuri, unde acesta a corespuns cu diagnosticul histopatologic. Prin creșterea numărului de probe cu diagnostic similar între examenul histopatologic și amprentă celulă + imunocitologie, crește acuratețea de diagnostic a acestora până la 94,6%.

Înainte de aplicarea imunocitologiei, între amprenta citologică și examenul histopatologic exista o concordantă de diagnostic pentru 98 de cazuri (88%), restul de 13 cazuri având diagnostice diferite, dar toate fiind încadrate în alte tipuri de neoplazii.

După aplicarea imunocitologiei, 7 alte cazuri au fost diagnosticate corespunzător examenului histopatologic, și anume toate ca fiind carcinom scuamos, atingându-se un număr de 105 (94,5%) diagnostice similare între metoda gold standard și cele două metode de diagnostic studiate împreună.

Studiul a prezentat un panel de markeri imunologici limitați, concentrați pentru diagnosticul diferențial al neoplaziilor pulmonare și astfel s-a menținut discrepanța de diagnostic în cazul neoplaziilor cu punct de plecare extrapulmonar.

VIII.DISCUȚII

VIII.1. Discuții generale

Studiul prezent a inclus 128 de biopsii ganglionare mediastinale și perihilare, care au fost supuse celor două metode de diagnostic (metoda gold standard – examenul histopatologic și metoda de studiu - amprenta citologică), dar și unei metode complementare – imunocitologia, menită să intervină în ajutorul amprente citologice în cazurile cu dificultate înaltă de diagnostic, cu precădere în neoplaziile slab diferențiate.

Fiecare probă a fost supusă atât examenului citologic cât și celui histopatologic și nu au fost luate în considerare fragmente biopsice pe care s-a efectuat doar una din cele două metode studiate.

În urma analizei statistice, pe lotul studiat, sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă și valoarea predictivă negativă a amprente citologice în comparație cu examenul histopatologic reprezintă 100%, 94,1%, 99,1%, respectiv 100%, în ceea ce privește diagnosticul atipiei celulare. Sensibilitatea diagnosticului scade pe măsură ce se țintește către un diagnostic celular de certitudine, ajungând la o medie de 82% pe toate probele analizate, cu un interval cuprins între 25 – 100% pentru diferite tipuri celulare.

Dintre toate formele neoplazice pulmonare, sensibilitatea cea mai crescută a fost observată în diagnosticul carcinomului neuroendocrin cu celulă mică (sensibilitate =100%), iar pentru cele cu origine extra-pulmonară, carcinomul tiroidian și melanomul (sensibilitate = 100%).

Comparând rezultatele deja cunoscute din literatură cu cele obținute în studiul prezent, se constată o sensibilitate și specificitate comparabilă în ceea ce privește diagnosticarea malignității celulare și a principalelor tipuri de neoplazii, atât intra cât și extratoracice. [16][17][18][19]

VIII.2. Discuții referitoare la lotul studiat

Relația tipului histopatologic al neoplaziilor pulmonare - sex, vârsta și factori comportamentali

Lotul din studiul de față a fost format predominant din bărbați, care au reprezentat 64% din numărul total de persoane înrolate în studiu.

Cancerul pulmonar este recunoscut ca fiind principala cauză de deces în rândul bărbaților și a 3-a cauză în rândul femeilor din totalul deceselor de cauză neoplazică.[20]

Riscul de apariție al cancerului pulmonar este direct proporțional cu vârsta. Dacă înainte de 40 de ani, șansa de a dezvolta acest tip de cancer este mică, riscul crește după 40 de ani și se va menține pe o pantă ascendentă odată cu înaintarea în vârstă.[21]

Vârsta medie de apariție a neoplaziei pulmonare în lotul studiat este de aproximativ 57 de ani, 59 de ani la bărbați, și 55 la femei, cu valori extreme relativ asemănătoare (bărbați 22-78 ani, femei 22 – 84 de ani). În rapoartele Fundației Internaționale de Cercetare Oncologică media de vârstă a apariției cancerelor pulmonare, în România este de 58,8 ani. Se poate observa o asemănare în ceea ce privește media de vârstă raportată de România la forumurile superioare (58,8 ani) cu cea a lotului studiat (57,3 ani).[22]

Pentru a justifica incidența mai crescută a neoplaziilor pulmonare la bărbați, s-a ridicat ipoteza că aceștia reprezintă o plajă mai largă din numărul total de fumători, iar fumatul este cunoscut ca fiind cel mai important factor de risc în apariția cancerului pulmonar. Însă statisticile OMS efectuate în ultimii ani, arată ștergerea treptată a diferențelor între cele două sexe în ceea ce privește fumatul, deoarece numărul femeilor fumătoare este în creștere, comparativ cu cel al bărbaților. Conform CDC 16.7% din bărbați și 13.6% din femei sunt fumători.[23]

Și în studiul actual se poate observa o incidență mai mare a fumatului la bărbați. Din numărul total de bărbați, 60 (73,1%) sunt fumători în timp ce doar 19 (41,3%) dintre femei sunt fumătoare. De asemenea și numărul de pachete/an sunt diferențiate în funcție de sex. Dacă valoarea medie la femei este de 26 pachete/an, la bărbați, aceasta depășește 36 pachete/an, însă valorile maxime între cele două sexe se apropie, fiind de 80 PA în cazul bărbaților și 60 PA în cazul femeilor.

Corelând comportamentul de fumător și cantitatea de țigări fumate/zi cu tipul de neoplazie se poate observa o incidență mai crescută în cazul neoplaziilor cu origine pulmonară comparativ cu cele extrapulmonare, depășind 22 pachete/an în cazul carcinoamelor pulmonare non-microcelulare și 33 pachete/an în cazul celor microcelulare. Deși toate subloturile analizate cuprindeau și nefumători, numărul cel mai mare de fumători și indicele PA era în cazul celor incluși în loturile diagnosticate cu SCLC și NSCLC.

Riscul relativ de apariție al neoplasmului pulmonar este cel mai crescut în cazul neoplasmului cu celulă mică, urmat de subtipul scuamos al carcinomului non-microcelular. Acest risc este direct dependent de numărul de ani în care pacientul fumează și scade pe măsură ce crește numărul de ani de sevraj în cazul celor care au renunțat la fumat. [24]

În ceea ce privește principalele tipuri de neplazii pulmonare, cele mai des întâlnite sunt carcinoamele non-microcelulare (87%) și dintre acestea, adenocarcinomul, carcinomul scuamos și carcinomul cu celulă mare sunt cele mai des întâlnite. Carcinomul microcelular nu reprezintă mai mult de 12%.[25][26][27]

Dintre NSCLC, cel mai comun tip de cancer pulmonar este adenocarcinomul, care reprezintă aproximativ jumătate din totalitatea neoplaziilor pulmonare. Creșterea incidenței acestui tip celular este atribuită modificărilor survenite în industria de tutun și anume introducerea țigărilor cu conținut scăzut de gudron, chiar dacă această teorie nu a fost pe deplin demonstrată. Incidența adenocarcinomului a crescut în detrimentul celorlaltor tipuri de NSCLC în special carcinomului scuamos, dar și SCLC. Incidența adenocarcinomului a rămas constantă la bărbați, dar a crescut în rândul femeilor, în timp ce incidența tipurilor histologice de cancer pulmonar precum: SCLC, carcinomul scuamos sau carcinomul cu celulă mare a scăzut.[28][27]

Tipurile histopatologice identificate în studiul prezent au respectat repartiția și incidența celor raportate în studii asemănătoare. Astfel carcinomul microcelular a reprezentat 10% din totalul neoplaziilor cu punct de plecare pulmonar, iar restul de 90% au fost identificate ca fiind NSCLC. Dintre acestea, cea mai mare incidență a fost atribuită adenocarcinomului, care a reprezentat 61,1%, urmat de carcinomul scuamos 24,4% și carcinomul cu celulă mare 4,5%.

VIII.3. Discuții referitoare la comparația dintre amprenta citologică și examenul histopatologic

Importanța examenului citologic în diagnosticul neoplaziilor pulmonare : amprenta citologică versus examenul histopatologic

Sensibilitatea amprente citologice efectuată pe adenopatii mediastinale în diagnosticul cancerului pulmonar, crește până la 93%, parțial prin calitatea mai bună a fragmentelor prelevate, care sunt de dimensiuni mai crescute și deseori prezintă elemente neoplazice vizibile pe investigațiile imagistice sau chiar macroscopic.[29][30][31]

Referitor la lotul studiat, din cele 128 de materiale biopsice analizate, amprenta citologică a interpretat ca având caracter malign 112 dintre ele, adică 87,5%, iar restul de 16 sau 12,5% ca fiind țesut inflamator, în timp ce examenul histopatologic a evidențiat caracter malign la 111 ganglioni (86,7%), restul de 17 (13,3%) fiind inflamatorii.

Prin compararea celor două metode de diagnostic, se poate observa o rata de diagnostic pozitiv al amprente citologice în toate cazurile adenopatii maligne, având astfel o

sensibilitate de 100% și supradiagnosticarea unui caz, având o specificitate de 94,1%. Supradiagnosticarea neoplaziilor pulmonare poate surveni în două categorii de afecțiuni: procese reactive interpretate ca fiind maligne, sau diagnosticarea unui proces tumoral benign ca fiind malign. De cele mai multe ori supradiagnosticarea apare în procesele metaplazice, date de condiții de inflamație cronică, precum expunerea prelungită la fumul de țigară. Însă există și cazuri în care limfocitul poate fi confundat cu celula neoplazică de dimensiuni mici prin asemănarea celor două în ceea ce privește friabilitatea celulară, cu atât mai mult când dimensiunile fragmentului biopsic sunt reduse. Acest tip de artefact reprezintă o problemă considerabilă în cazul biopsiilor bronșice unde dimensiunile și calitatea fragmentelor biopsiate pot fi reduse. Având în vedere gravitatea diagnosticului, este important ca atunci când există suspiciune clinică sugestivă pentru o neoplazie, dar examenul histopatologic este artefactat, să fie efectuate metode suplimentare, precum cele imunohistochemice, pentru a exclude că celule artefactate sunt limfocite și pentru a putea avea un diagnostic corect.[32][33][34][35]

Dacă sensibilitatea amprenteii citologice în identificarea caracterului malign a adenopatiilor mediastinale, a fost citată în literatura internațională ca fiind cuprinsă între 89 și 95,7%, iar specificitatea între 99,5 și 100%, în studiul prezent acestea sunt 100%, respectiv 94,1%. [36][37] [38][39]

În lotul studiat, din cele 111 cazuri de adenopatii cu caracter malign, toate au fost identificate de amprenta celulară și 1 caz de adenopatie reactivă, a fost greșit interpretat ca fiind atipie celulară.

În ceea ce privește capacitatea amprenteii citologice de a diagnostica principalele tipuri de tumori intratoracice, în studiul nostru, se poate observa o rată de 100% în diagnosticul carcinomului cu celule mici și melanomului în timp ce carcinomul pulmonar non-microcelular a fost supradiagnosticat, evidențiindu-se 86 de cazuri, față de cele 83 diagnosticate histopatologic. Cele 3 cazuri diagnosticate eronat ca fiind NSCLC au reprezentat 1 caz de carcinom non-pulmonar, 1 caz de limfom și o adenopatie reactivă.

Diagnosticul similar între cele 2 metode de diagnostic morfologic este întâlnit pentru 83 din 86 de cazuri, identificând astfel o sensibilitate de 96,5% și o valoare predictivă pozitivă de 100%.

În studiul prezent cel mai frecvent tip morfologic tumoral a fost reprezentat de adenocarcinom, observat la 55 de pacienți (43%), urmat ulterior de carcinomul scuamos (20 pacienți, 15%), limfomul Hodgkin (11 pacienți, 8%) și carcinomul cu celulă mică (9 pacienți,

7%). Cazurile reprezentate de determinări secundare ale neoplaziilor cu origine extra-toracică sunt întâlnite mai rar, și nu depășesc 3% din totalul cazurilor.

Concordanța de 100% între diagnosticul histopatologic și amprenta celulară apare în cazul neoplaziilor pulmonare doar la carcinomul cu celulă mică, iar în cazul determinărilor secundare, în carcinomul tiroidian și melanom. Restul neoplaziilor au fost subdiagnosticate, cel mai des fiind încadrate ca fiind carcinom scuamos sau adenocarcinom. Astfel, 2 cazuri de adenocarcinom și 1 caz de carcinom cu celulă mare au fost greșit interpretate ca fiind carcinom scuamos și 16 cazuri de neoplazii non-adenocarcinom au fost interpretate ca adenocarcinom.

Neoplaziile interpretate neconcordant drept adenocarcinom sunt următoarele: carcinom sarcomatoid – 1 caz, carcinom scuamos – 11 cazuri, limfom Hodgkin – 1caz, carcinom cu celulă mare – 1caz și carcinom hepatocelular -1 caz.

Astfel, rata de concordanță diagnostică apare în 91 de cazuri din 111, cu o sensibilitate de 82%.

Carcinomul cu celule mici – a fost detectat cu ajutorul amprentei celulare într-un studiu asemănător care a cuprins 90 de cazuri de SCLC, cu o sensibilitate, specificitate, valoare predictivă pozitivă și negativă de 89%, 100%, 100% și respectiv 68%, fără existența unor rezultate fals pozitive. [168] În lotul studiat, numărul de cazuri detectate cu SCLC au fost 9, dar sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă și negativă au fost 100%

Carcinomul non-microcelular – a fost diagnosticat într-un studiu asemănător cu o sensibilitate, specificitate, valoare predictivă pozitivă și negativă de 89,9%, 100%, 100% și respectiv 94,3%, asemănătoare examenului histopatologic. [40]

În lotul studiat, au fost interpretate neconcordant 2 cazuri de adenocarcinom și un caz de carcinom cu celulă mare ca fiind carcinom scuamos și 11 cazuri de carcinom scuamos, 2 cazuri de carcinom cu celulă mare, plus câte 1 caz de carcinom sarcomatoid, hepatocelular, limfom Hodgkin ca fiind adenocarcinom. Neconcordanța cea mai importantă apare între adenocarcinom și carcinomul scuamos.

În cele mai multe cazuri, distincția dintre adenocarcinom și carcinom cu celule scuamoase este ușor de realizat pe baza unor criterii morfologice standard, semnele de keratinizare reprezintă semnele distinctive de carcinom cu celule scuamoase, iar arhitectura glandulară, reprezintă semnele distinctive ale adenocarcinomului. Cu toate acestea, distincția poate fi dificilă în unele tumori slab diferențiate, în cazul în care definirea caracteristicilor glandulare sau scuamoase sunt subtile sau focale. Acest aspect este deosebit de amplificat în probele de dimensiuni reduse (biopsii mici), în cazul în care dovezile de diferențiere

morfologică nu pot fi reprezentate din cauza celularității insuficiente, strivirii, sau dispersării celulelor. Pentru că ~ 70% din carcinoamele non-microcelulare se prezintă într-un stadiu depășit chirurgical, singurul material biopsic în vederea stabilirii diagnosticului sunt probe biopsice de dimensiuni reduse, precum cele ganglionare. [41]

VIII.4. Discuții referitoare la eficacitatea imunocitologiei în completarea diagnosticului amprente citologice

În situațiile unde diagnosticul histopatologic sau citologic este problematic, în special în cazul celulelor slab diferențiate, imunocitologia sau imunohistochimia, reprezintă o unealtă extrem de valoroasă în diagnosticul diferențial al neoplaziilor pulmonare sau extrapulmonare. Chiar dacă algoritmul de diagnostic nu a fost în totalitate stabilit, studiile arată creșterea acurateții, și reproductibilității, minimalizând astfel rata de diagnostic fals pozitiv/negativ. [42]

În ceea ce privește diagnosticul diferențial al neoplaziilor pulmonare, atât în literatură, cât și în lotul studiat, probele biopsice problematice, au fost reprezentate de formele slab diferențiate. Multiple neoplazii slab diferențiate dintre cele studiate, au încetinit diagnosticarea și încadrarea într-un anumit tip celular, crescând astfel dificultatea de diagnostic. Dificultatea cea mai mare, a existat în diferențierea a două forme de NSCLC și anume: adenocarcinomul și carcinomul scuamos.

Cei mai comuni markeri de diagnostic al carcinomului scuamos sunt reprezentați de citokeratine cu greutate moleculară mare, în timp ce adenocarcinomul se pozitivează în prezența TTF-1. [43] Problema survenită în discuțiile pe tema imunocitologiei este că nu există markeri specifici și sensibili pe un singur tip celular, iar rezultatele se bazează pe studii care au demonstrat o anumită afinitate a markerilor spre un grup de celule în funcție de originea lor. Aceste informații corelate cu examenul histologic, clinic și imagistic duc la un diagnostic concret.

Paleta minim necesară de anticorpi în diagnosticul neoplaziilor pulmonare este formată din: gama de citokeratine cu greutate moleculară mică și mare, TTF-1, markeri neuroendocrini, cromogranina și sinaptofizina.

Markerii imunologici au fost utilizați în acest studiu, când diagnosticul amprente citologice a fost dificil, în special prin prezența celulelor slab diferențiate. Pentru 7 pacienți, cu dificultate de diagnostic între cele două tipuri histologice pulmonare (adenocarcinom și carcinom scuamos), markerii utilizați au orientat diagnosticul către un tip celular. Au fost însă și cazuri în care nevoia unor markeri imunologici suplimentari și-a făcut simțită prezența.

Multe dintre aceste cazuri au presupus neoplazii cu origine extratoracică sau neoplazii hematologice.

VIII.5. Discuții referitoare la compararea amprentei citologice cu examenul extemporaneu

Analiza intraoperatorie a adenopatiilor în timpul unei intervenții chirurgicale oncologice reprezintă o manevră de rutină și trebuie efectuată rapid și cu ce mai mare acuratețe. Pentru a reduce rata de complicații și morbiditate, această metodă a devenit uzuală în toate cazurile în care este posibilă și precedă intervenția chirurgicală efectuată ulterior, cu scop curativ.[44]

Metoda de diagnostic gold standard este reprezentată de examenul histopatologic, însă este necesară o evaluare preliminară care să diferențieze caracterul malign de cel benign al adenopatiilor biopsiate. Metoda standard utilizată este examenul extemporaneu.

În ultimii ani s-au efectuat numeroase studii care au pus în balanță două metode de diagnostic rapid: examenul extemporaneu și amprenta celulară, acestea fiind comparate ulterior cu rezultatul final al examenului anatomopatologic. Cele mai multe studii au fost efectuate pe ganglionul stantinellă din cancerul de sân, iar acestea au demonstrat o concordanță diagnostică între cele două, dar și cu rezultatul histopatologic. [45][46][47][48]

Sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă negativă și pozitivă, dar și acuratețea amprentei celulare au fost măsurate comparativ cu examenul histopatologic și au reprezentat 92,1%, 98,8%, 97,5%, 94,6% și 98,2% [45][48][46]

În studiul prezent analiza comparativă a amprentei citologice cu examenul extemporaneu nu a fost dezbătută, deoarece rezultatele acestuia nu au fost incluse în studiu. Motivul principal pentru care nu s-a urmărit această ramură, a fost numărul redus de intervenții chirurgicale pentru care a fost necesar examenul extemporaneu.

După cum a fost demonstrat în studiul prezent, sensibilitatea și specificitatea amprentei citologice în identificarea caracterului malign au fost de 100%, respectiv 94,1%, comparativ cu rezultatele întâlnite în literatură, dar și cu cele ale examenului extemporaneu. [49][48] Plecând de la aceste premise, se poate extrapola ca cel mai probabil, compararea amprentei citologice cu examenul extemporaneu ar demonstra o sensibilitate cel puțin la fel de bună ca a acestuia, dacă nu superioară.

Având în vedere beneficiile deja cunoscute ale amprentei citologice, printre care: acuratețe crescută, costuri minime și timp scurt de lucru, se poate spune că reprezintă o metodă sigură de diagnostic.

Amprenta citologică nu necesită metode laborioase de lucru, poate fi efectuată cu ușurință în laboratoare care nu dispun de tehnologia necesară unui examen anatomo-patologic sau imunohistochimic, fără a periclita siguranța pacientului în ceea ce privește diagnosticul corect.

VIII.6 Discuții referitoare la utilitatea amprentei celulare

Discuții referitoare la prognosticul de viață al pacienților și calitatea vieții în funcție de tipul histopatologic

De-a lungul timpului s-au făcut eforturi considerabile de a se micșora pe cât posibil timpul dintre apariția neoplaziei și diagnosticul acesteia. Este unanim recunoscut faptul că prognosticul cancerului pulmonar este foarte slab, cu cifre de supraviețuire la 5 ani de aproximativ 5-10% pentru anumite tipuri histologice.[50][51][52][53]

Prognosticul cancerului pulmonar este direct dependent de vârsta subiectului, stadiul bolii în momentul diagnosticului și tipul histologic.

Supraviețuirea la 5 ani, este invers proporțională cu vârsta subiecților, scăzând odată cu înaintarea în vârstă. Astfel șansa de supraviețuire pentru cei sub 40 de ani este de 42%, în timp ce peste 80 de ani, ajunge la 6%, conform unui studiu britanic efectuat pe pacienții cu cancer pulmonar între 2009-2013.[54]

Dezvoltarea unei tumori pulmonare maligne este ușor de calculat în funcție de timpul de dublare tumoral și care este direct dependentă de tipul celular, astfel pentru carcinomul neuroendocrin cu celule mici timpul de dublare tumoral este de 1 lună, în timp ce pentru adenocarcinom, 6 luni sau mai mult. [55]

S-au efectuat multiple studii care au urmărit timpul de întârziere al diagnosticului, care a fost demonstrat a fi dependent inițial de pacient și ulterior de serviciul de sănătate, dar și impactul pe care îl are această întârziere asupra prognosticului pacientului. Acestea au concluzionat că pacientul așteaptă de la momentul apariției primelor simptome până la prezentarea la medic, în medie 4 luni (minim 2 luni, maxim 6 luni). Timpul mediu de așteptare între prima prezentare la medic și inițierea unui tratament curativ este de 2 luni, timp în care 21% dintre pacienții cu neoplazii potențial curabile, devin incurabili.[55][52]

Timpul necesar unui pacient cu suspiciune de neoplazie pulmonară de la prezentarea într-un serviciu medical până la inițierea tratamentului este în medie de 4,5 luni.[56] Acest timp pare extrem de mare în comparație cu recomandările Societății Canadiene de Control al Cancerului, care recomandă timpul maxim de diagnostic să fie de 4 săptămâni sau al

Serviciului Național de Sănătate al Marii Britanii, care recomandă diagnosticarea unei suspiciuni neoplazice pulmonare în 2 săptămâni.[56]

O întârziere importantă este dată de investigațiile diagnostice complexe: imagistice, neinvazive sau invazive nechirurgicale (examen de laborator, examen bronhoscopic, lavaj bronho-alveolar), chirurgicale minim-invazive sau invazive și examenul histopatologic.

Respectarea acestor recomandări presupune un serviciu de sănătate capabil să facă investigațiile imagistice sau bronhologice cât mai rapid, iar diagnosticul de certitudine, histopatologic trebuie să nu prezinte întârzieri.

Nevoia simplificării diagnosticului neoplaziilor pulmonare devine mare, cu atât mai mult cu cât aceasta poate influența prognosticul pacientului sau calitatea vieții acestuia.

Acest studiu, dorește evidențierea capacitații amprentei citologice de a diagnostica cancerele pulmonare și mediastinale rapid și corect în raport cu metoda histopatologică, gold standard-ul în diagnosticul oncologic.

Conform acestui studiu, amprenta celulară a fost capabilă să identifice toate cazurile de malignitate celulară din probele studiate. În ceea ce privește tipul de neoplazie, amprenta a diagnosticat 96,5% din cazuri, iar diagnosticul neoplazic de tip celular a atins 82%.

Acolo unde amprenta citologică a pus dificultăți de diagnostic morfologic celular, o metoda mai specifică și anume imnocytochemistry pe amprenta celulară a fost capabilă să ofere un răspuns similar celui histopatologic în mai bine de 94,6% din cazuri, crescând astfel acuratețea diagnostică de la 88,3% la 94,6% și scurtând astfel timpul de diagnostic.

Amprenta citologică are multiple avantaje: capacitatea metodei de a pune un diagnostic corect prin sensibilitatea, specificitatea și acuratețea crescută, costuri scăzute (nu necesită perisabile costisitoare, laboratoare performante, laboratoare de anatomie patologică sau anatomopatolog, aceasta putând fi realizată de citolog), timp redus de prelucrare (diagnostic de atipie celulară în câteva minute – înlocuind examenul extemporaneu în diagnosticul intraoperator, amprenta având în anumite studii acuratețe mai crescută), rezultat final în mai puțin de o zi, față de examenul histopatologic care durează în medie 30 de zile și astfel se poate iniția tratamentul oncologic cât mai rapid.

Dezavantajele acestei metode: rezultatele obținute la amprenta citologică sunt direct dependente de calitatea materialului biptic și de experiența operatorului.

VIII.7. Limitările studiului

Menționăm totodată o serie de potențiale limitări ale studiului efectuat:

1. Studiul este transversal, prospectiv și s-a desfășurat pe o perioadă relativ scurtă, 16 luni și a inclus 128 de pacienți din cadrul unui singure instituții medicale și anume Institutul de Pneumoftiziologie “Marius Nasta” din București.

2. Prin profilul specific pulmonar al unității medicale în care s-a desfășurat studiul, a permis prelevarea probelor biopsice de la pacienți cu patologii predominant pulmonare, restul fiind mai slab reprezentate.

3. O limitare a acestui studiu este reprezentată de dependența directă între rata de succes a diagnosticului citologic și experiența operatorului. Metoda investigată este nou implementată în România și presupune pregătire și muncă suplimentară din partea citologului.

4. O altă limitare a acestui studiu a fost reprezentată de paleta relativ redusă de anticorpi mono și policlonali disponibili pentru efectuarea imunocitologiei, care s-au limitat în special la neoplaziile cu punct de plecare pulmonar și mai puțin pe neoplaziile extratoracice sau non-tumorale.

5. Datele prezente reprezintă finalul unei etape intermediare, studiul de față urmând a fi dezvoltat atât ca număr de cazuri incluse, cât și ca metode de investigații efectuate pe probele biopsice, într-un studiu ce se dorește a fi multicentric în cadrul unui nucleu de cercetare dedicat.

IX.CONCLUZII

Studiul efectuat a cuprins un număr 128 de cazuri, investigate clinic, biologic, imagistic și prin metode histologice precum amprenta citologică, imunocitologia și examenul histopatologic.

Concluziile generale ale studiului de față:

➤ Modificările morfologice la examenului histopatologic ale ganglionilor limfatici:

- din totalul pieselor biopsice 86,7% au prezentat caracter malign (cancer primar: pulmonar, tiroidian, timic, limfom Hodgkin și non Hodgkin, determinări secundare: sarcomatoid, hepatocelular și melanom) și 13,3% caracter benign (tuberculoză, sarcoidoză, antracoză)

- neoplasmul pulmonar a fost întâlnit în 70,3% din cazuri
- cel mai frecvent tip histopatologic al neoplasmului pulmonar este reprezentat de adenocarcinom 61,1%, urmat de carcinomul scuamos 24,4%, carcinomul microcelular 10% și carcinomul cu celulă mare 4,5%
- dintre neoplaziile intratoracice, non-pulmonare, cel mai frecvent tip histopatologic a fost limfomul Hodgkin 6,3%, non-Hodgkin 3,6%, urmat de carcinom sarcomatoid 3,6%, carcinom tiroidian 2,7%, carcinom timic, hepatocelular și melanom care fiecare reprezintă 0,9%.

➤ **Modificările morfologice ale amprentei celulare la nivelul ganglionilor limfatici:**

- din totalul pieselor biopsice 87,5% au prezentat caracter malign și 11,5% caracter benign
- neoplasmul pulmonar a fost identificat 73,4% din cazuri
- neoplaziile intratoracice non-pulmonare reprezintă 14%
- probele biopsice cu caracter benign au pus dificultăți în diagnosticul diferențial, aceasta identificând doar celulele inflamatorii

➤ **Modificările imunocitologice ale ganglionilor limfatici**

- a fost utilizată în diagnosticul diferențial al neoplaziilor pulmonare slab diferențiate
- a diagnosticat corect tipul celular în 13 cazuri de neoplasm pulmonar, care au pus probleme de diagnostic la amprenta citologică

➤ **În diferențierea caracterului malign de cel benign, amprenta citologică prezintă o sensibilitate, specificitate, valoare predictivă pozitivă și negativă de 100%, 94,1%, 99,1%, respectiv 100%.**

➤ **În încadrarea probelor biopsice sugestive pentru neoplazii cu origine pulmonară, în una din cele două tipuri principale de cancere pulmonare: NSCLC și SCLC, amprenta citologică prezintă o sensibilitate de 100%. În ceea ce privește sensibilitatea de diagnostic a amprente pentru carcinoamele cu origine extrapulmonară aceasta este 83,3%, iar pentru limfom de 91,7%.**

➤ **Amprenta citologică a diagnosticat în lotul studiat, cazurile încadrate ca fiind SCLC de către examenul histopatologic, cu o sensibilitate de 100%**

➤ **Amprenta citologică a diagnosticat în lotul studiat, cazurile încadrate ca fiind NSCLC de către examenul histopatologic, cu o sensibilitate de 100%, însă diagnosticul diferitelor tipuri de NSCLC cu o sensibilitate cuprinsă între 25% -96,4% (carcinomul scuamos 50%, adenocarcinomul 96,4%, carcinomul cu celulă mare 25%)**

➤ **Amprenta citologică a diagnosticat în lotul studiat, cazurile încadrate neoplazii cu origine extrapulmonară cu o sensibilitate cuprinsă între 0%-100% (carcinomul tiroidian 100%, melanomul 100%, carcinomul sarcomatoid 75%, limfomul Hodgkin 75%, limfomul non-Hodgkin 75% și carcinomul hepatocelular 0%)**

➤ **Sensibilitatea ampretei citologice în ceea ce privește diagnosticul subtipurilor NSCLC este de 80%, iar a tuturor neoplaziilor de 88,3%**

➤ **Sensibilitatea ampretei citologice completată de imunocitologie în ceea ce privește diagnosticul subtipurilor de NSCLC este de 88,9%, iar a tuturor neoplaziilor studiate de 94,6%**

Concluziile finale ale studiului “Amprenta citologică și imunocitologia în diagnosticul și stadializarea tumorilor pulmonare”:

1. Rezultatele studiului susțin datele din literatura internațională despre beneficiul utilizării ampretei citologice prin dovedirea unei sensibilități și specificități crescute comparativ cu examenul histopatologic.

2. Amprenta citologică este o metodă de diagnostic cu sensibilitate și specificitate similară examenului histopatologic pentru diferențierea caracterului malign de cel benign al celulelor. Sensibilitatea scade pentru diferențierea tipului celular al neoplaziilor intratoracice până la 88,3%.

3. Completarea ampretei citologice cu imunocitologia dă rezultate similare examenului histopatologic în 94,6% din cazuri.

4. Aplicarea testului statistic de echivalență între amprenta citologică și examenul histopatologic pentru evidențierea caracterului malign, arată echivalența între cele 2 metode: amprenta citologică și examenul histopatologic

5. Amprenta citologică este o măsură sigură, rapidă și puțin costisitoare care dă rezultate similare examenului histopatologic, cu atât mai mult cu cât este completată de imunocitologie în diagnosticul neoplaziilor pulmonare.

Concluzia globală cu importanță în practica medicală curentă: prin timpul redus al diagnosticării și sensibilitatea similară examenului histopatologic, amprenta citologică poate contura un diagnostic citologic în mai puțin de 24 de ore. În acest fel inițierea tratamentului chirurgical curativ sau oncologic va fi posibil mult mai rapid, acest fenomen urmând a avea un impact benefic asupra supraviețuirii și prognosticului pacienților cu neoplasm pulmonar.

X. BIBLIOGRAFIE

- [1] World Health Organization, "Cancer," 2015. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>.
- [2] World Health Organization, "Cancer Country Profiles," 2014. [Online]. Available: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/.
- [3] M. A. Bogdan, *Pneumologie*. Bucuresti: Editura Medicala "Carol Davila," 2008.
- [4] Holland, *Cancer medicine 4th ed*. 1997.
- [5] C. C. Edge SB, "The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM," *Ann Surg Oncol*, vol. 17, no. 6, pp. 1471–1474, 2010.
- [5] J. M. G. Blesa, E. E. Gonzalez, and V. A. Candel, "Screening and chemoprevention in lung cancer," *Clinical and Translational Oncology*, vol. 10, no. 5. pp. 274–280, 2008.
- [7] M. L. Bild E, *Terapia cancerului: ghid practic. Elemente fundamentale de diagnostic și tratament multimodal*. Iasi: Editura Tehnopress, 2003.
- [8] E. Toloza, L. Harpole, and D. C. McCrory, "Noninvasive staging of non-small cell lung cancer. A review of the current evidence," *Chest*, vol. 123, no. 1 suppl, p. 137S–146S, 2003.
- [9] S. Ghosh, P. Nanjiah, and J. Dunning, "Should all patients with non-small cell lung cancer who are surgical candidates have cervical mediastinoscopy preoperatively?,"

Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg., vol. 5, no. 1, pp. 20–24, 2006.

- [10] J. Mouroux, N. Venissac, and M. Alifano, “Combined video-assisted mediastinoscopy and video-assisted thoracoscopy in the management of lung cancer,” *Ann. Thorac. Surg.*, vol. 72, no. 5, pp. 1698–1704, 2001.
- [11] A. Khalid and A. U. Haque, “Touch Impression Cytology Versus Frozen Section as Intraoperative Consultation Diagnosis,” *Int. J. Pathol.*, vol. 2, no. 2, pp. 63–70, 2004.
- [12] P. B. C. K. C. Suen, W. S. Wood, A. A. Syed, N. F. Quenville, “Role of imprint cytology in intraoperative diagnosis: value and limitations,” *J. Clin. Pathol.*, vol. 31, pp. 328–337, 1978.
- [13] A. Orki, “Feasibility of Imprint Cytology for Evaluation of Mediastinal Lymph Nodes in Lung Cancer,” *Jpn. J. Clin. Oncol.*, vol. 36, no. 2, pp. 76–79, 2006.
- [14] K. Okubo, T. Kato, A. Hara, N. Yoshimi, K. Takeda, and F. Iwao, “Imprint cytology for detecting metastasis of lung cancer in mediastinal lymph nodes,” *Ann. Thorac. Surg.*, vol. 78, no. 4, pp. 1190–1193, 2004.
- [15] G. A. Barkan, N. P. Caraway, F. Jiang, T. M. Zaidi, R. Fernandez, A. Vaporcyin, R. Morice, X. Zhou, B. N. Bekele, and R. L. Katz, “Comparison of molecular abnormalities in bronchial brushings and tumor touch preparations: Potential use of fluorescence in situ hybridization to identify predictive markers in early-stage lung carcinomas,” *Cancer*, vol. 105, no. 1, pp. 35–43, 2005.
- [16] Howard J West, “Bronchioloalveolar carcinoma, including adenocarcinoma in situ,” Ted. W. Post, Ed. UpToDate in Waltham, MA, 2016.
- [17] W. D. Travis, E. Brambilla, H. K. Müller-Hermelink, and C. Harris, “World Health Organization classification of tumours; tumours of lung, pleura, thymus and heart,” *World Heal. Organ. Classif. tumours; tumours lung, pleura, thymus Hear.*, pp. 9–122, 2004.
- [18] S. R. Hirsch FR, Matthews MJ, Aisner S, Campobasso O, Elema JD, Gazdar AF, Mackay B, Nasiell M, Shimosato Y, “Histopathologic classification of small cell lung cancer. Changing concepts and terminology,” *Cancer*, vol. 62, no. 5, p. 973, 1988.
- [19] Y. Y. Travis WD, Rekhtman N, Riley GJ, Geisinger KR, Asamura H, Brambilla E, Garg K, Hirsch FR, Noguchi M, Powell CA, Rusch VW, Scagliotti G, Yatabe Y Travis WD, Rekhtman N, Riley GJ, Geisinger KR, Asamura H, Brambilla E, Garg K, Hirsch FR, Noguchi M, Powell CA, “Pathologic diagnosis of advanced lung cancer based on small biopsies and cytology: a paradigm shift,” *J Thorac Oncol*, vol. 5, no. 4, p. 511, 2010.

- [20] M. W. Pound, R. H. Drew, and J. R. Perfect, "Recent advances in the epidemiology, prevention, diagnosis, and treatment of fungal pneumonia.," *Curr. Opin. Infect. Dis.*, vol. 15, no. 2, pp. 183–94, 2002.
- [21] K. W. Thomas, "Patient information: Lung cancer risks, symptoms, and diagnosis (Beyond the Basics)," in *UpToDate*, Ted. W. Post, Ed. UpToDate in Waltham, MA, 2016.
- [22] W. C. R. F. International, "Lung cancer statistics," 2015. [Online]. Available: <http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/data-specific-cancers/lung-cancer-statistics>.
- [23] C. for D. C. and Prevention, "Cigarette Smoking Among Adults—United States, 2005–2015," *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, vol. 65, no. 44, pp. 1205–1211, 2016.
- [24] and G. A. C. Stacey A. Kenfield, Esther K. Wei, Meir J. Stampfer, Bernard A. Rosner, "Comparison of Aspects of Smoking Among Four Histologic Types of Lung Cancer," *Tob Control*, vol. 17, no. 3, pp. 198–204, 2008.
- [25] "Types of lung cancer," *Cancer Research UK*. [Online]. Available: <http://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/type/lung-cancer/about/types-of-lung-cancer>.
- [26] A. M. M. and M. S. G. Carole A. Ridge, "Epidemiology of Lung Cancer," *Semin Interv. Radiol.*, vol. 30, no. 2, pp. 93–98, 2013.
- [27] P. D. M. Devesa S S, Bray F, Vizcaino A P, "International lung cancer trends by histologic type: male:female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising," *Int J Cancer*, vol. 117, no. 2, pp. 294–299, 2005.
- [28] U. S. D. of H. and H. Services, "The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General," Atlanta, 2014.
- [29] D. E. Midthun, "Overview of the risk factors, pathology, and clinical manifestations of lung cance," in *UpToDate*, Ted. W. Post, Ed. UpToDate in Waltham, MA, 2016.
- [30] H. DA Sequist LV, Bell DW, Lynch TJ, "Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer," *J Clin Oncol*, vol. 25, no. 5, pp. 587–95, 2007.
- [31] K. S. Shim HS, Lee da H, Park EJ, "Histopathologic characteristics of lung adenocarcinomas with epidermal growth factor receptor mutations in the International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society lung adenocarcinoma classification," *Arch Pathol Lab med*, vol. 135, no. 10, pp. 1329–34, 2011.

- [32] K. J. Butnor, "Avoiding Underdiagnosis, Overdiagnosis, and Misdiagnosis of Lung Carcinoma," *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 132, no. 7, pp. 1118–1132, 2008.
- [33] W. D. Travis, E. Brambilla, M. Noguchi, A. G. Nicholson, K. Geisinger, Y. Yatabe, Y. Ishikawa, I. Wistuba, D. B. Flieder, W. Franklin, A. Gazdar, P. S. Hasleton, D. W. Henderson, K. M. Kerr, I. Petersen, V. Roggli, E. Thunnissen, and M. Tsao, "Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European respiratory society classification," *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, vol. 137, no. 5, pp. 668–684, 2013.
- [34] Sanjay Mukhopadhyay, "Utility of small biopsies for diagnosis of lung nodules: doing more with less," *Mod. Pathol.*, vol. 25, pp. 43–57, 2012.
- [35] C. N. P. Michael O Idowu, "Lung cancer cytology: potential pitfalls and mimics - a review," *Int J Clin Exp Pathol.*, vol. 3, no. 4, pp. 367–385, 2010.
- [36] K. Okubo, T. Kato, A. Hara, N. Yoshimi, K. Takeda, and F. Iwao, "Imprint cytology for detecting metastasis of lung cancer in mediastinal lymph nodes," *Ann. Thorac. Surg.*, vol. 78, no. 4, pp. 1190–1193, 2004.
- [37] S. S. Jayanti Chandrakar, "Evaluation of the relevance of touch imprint cytology in the diagnosis of various neoplastic lesions," *Int. J. Res. Med. Sci.*, vol. 3, no. 11, pp. 3046–3050, 2015.
- [38] M. K. K. R Paulose, C D Shee, I A Abdelhadi, "Accuracy of touch imprint cytology in diagnosis lung cancer," *Cytopathology*, vol. 15, no. 2, pp. 109–112, 2004.
- [39] A. M. Ahmed S, "Comparison of diagnostic accuracy of touch imprint cytology and frozen section techniques in detecting breast malignancies," *J Pak Med Assoc*, vol. 66, no. 3, pp. 292–295, 2016.
- [40] G. Michels; T. Topalidis; R. Büttner; M. Engels; R. Pfister, "Usefulness of Imprint and Brushing Cytology in Diagnosis of Lung Diseases With Flexible Bronchoscopy," *J. Clin. Pathol.*, vol. 65, no. 7, pp. 649–653, 2012.
- [41] S. L. Edwards, C. Roberts, M. E. McKean, J. S. Cockburn, R. R. Jeffrey, and K. M. Kerr, "Preoperative histological classification of primary lung cancer: accuracy of diagnosis and use of the non-small cell category.," *J. Clin. Pathol.*, vol. 53, no. 7, pp. 537–40, 2000.
- [42] G. Rossi, G. Pelosi, P. Graziano, M. Barbareschi, and M. Papotti, "A reevaluation of the clinical significance of histological subtyping of non--small-cell lung carcinoma: diagnostic algorithms in the era of personalized treatments.," *Int. J. Surg. Pathol.*, vol.

- 17, no. 3, pp. 206–18, 2009.
- [43] P. S. Loo, S. C. Thomas, M. C. Nicolson, M. N. Fyfe, and K. M. Kerr, “Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens,” *J. Thorac. Oncol.*, vol. 5, no. 4, pp. 442–447, 2010.
 - [44] T. A. Safai A, Razeghi A, Monabati A, Azarpira N, “Comparing touch imprint cytology, frozen section analysis, and cytokeratin immunostaining for intraoperative evaluation of axillary sentinel lymph nodes in breast cancer,” *Indian J Pathol Microbiol*, vol. 55, no. 2, pp. 183–186, 2012.
 - [45] S. Z. Huang XY, Wu J, Xu WP, Wang LF, Shi DR, Zhou M, Zhang JX, Han QX, Shen KW, Shen ZZ, “Evaluation of intraoperative touch imprint cytology of sentinel lymph node for breast cancer,” *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, vol. 27, no. 8, pp. 596–599, 2007.
 - [46] I. H. Motomura K, Nagumo S, Komoike Y, Koyama H, “Accuracy of imprint cytology for intraoperative diagnosis of sentinel node metastases in breast cancer,” *Ann Surg*, vol. 247, no. 5, pp. 839–42, 2008.
 - [47] B. A. Mullenix PS, Carter PL, Martin MJ, Steele SR, Scott CL, Walts MJ and A. Information, “Predictive value of intraoperative touch preparation analysis of sentinel lymph nodes for axillary metastasis in breast cancer,” *Ann J Surg*, vol. 185, no. 5, pp. 420–4, 2003.
 - [48] L. E. Shiver SA, Creager AJ, Geisinger K, Perrier ND, Shen P, “Intraoperative analysis of sentinel lymph nodes by imprint cytology for cancer of the breast,” *Ann J Surg*, vol. 184, no. 5, pp. 424–7, 2002.
 - [49] A. Orki, “Feasibility of Imprint Cytology for Evaluation of Mediastinal Lymph Nodes in Lung Cancer,” *Jpn. J. Clin. Oncol.*, vol. 36, no. 2, pp. 76–79, 2006.
 - [50] D. F. A Moody, M Muers, “Delays in managing lung cancer,” *Thorax*, vol. 59, no. 1, pp. 1–3, 2004.
 - [51] A. K. F. and A. G. Maria Iachina, Erik Jakobsen, “Transfer between hospitals as a predictor of delay in diagnosis and treatment of patients with Non-Small Cell Lung Cancer – a register based cohort-study,” *BMC Health Services Research*, p. 267, 2017.
 - [52] E. R. O’Rourke N, “Lung cancer treatment waiting times and tumour growth,” *Clin Oncol*, vol. 12, no. 3, pp. 141–144, 2000.
 - [53] B. E. Koyi H, Hillerdal G, “Patients’ and doctors’ delays in the diagnosis of chest tumours,” *Lung Cancer*, vol. 35, pp. 53–7, 2002.
 - [54] Office for national statistics, “Cancer survival in England: adults diagnosed in 2009 to

2013, followed up to 2014,” 2014. [Online]. Available: <http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/lung-cancer/survival#heading-One>.

- [55] G. P. E.D. Christensen , T. Harvald, M. Jendresen, S. Aggestrup, “The impact of delayed diagnosis of lung cancer on the stage at the time of operation,” *Eur. J. Cardio-thoracic Surg.*, vol. 12, pp. 880–884, 1997.
- [56] P. M. Ellis and R. Vandermeer, “Delays in the diagnosis of lung cancer,” *J. Thorac. Dis.*, vol. 3, no. 3, pp. 183–188, 2011.