

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ
DISCIPLINA FIZIOPATOLOGIE II**

***MECANISME FIZIOPATOLOGICE ÎN PROLIFERĂRILE
MELANOCITARE CUTANATE***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ION DANIELA ADRIANA

Student-doctorand:

HODOROGEA CĂS. COMAN ANASTASIA

2023

CUPRINS

INTRODUCERE	1
I. PARTEA GENERALĂ.....	4
1 PROLIFERĂRI MELANOCITARE CUTANATE – NEV, NEV ATIPIC, MELANOM – GENERALITĂȚI	4
1.1. Melanocitele	4
1.2. Nevul comun	5
1.2.1. Factori predispozanți	5
1.2.2. Clasificare nevi	5
1.3. Nevul melanocitar atipic	8
1.4. Melanomul	10
2 MELANOMUL.....	12
2.1 Epidemiologie	12
2.2 Genetică	13
2.3 Factorii de prognostic histopatologici ai melanomului și stadializarea tumorală.....	15
2.4 Molecule implicate în progresia melanomului	20
2.4.1 E-caderina, N-caderina și tranziția epitelial mezenchimală în melanom	20
2.4.2 VEGF.....	25
2.4.3 p53	26
2.4.4 CEACAM1	27
3 DERMATOSCOPIA PROLIFERĂRILOR MELANOCITARE CUTANATE – NEV, MELANOM	30
II. PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE	33
4 IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE ALE STUDIULUI.....	33
4.1 Ipoteza de lucru.....	33
4.2 Obiective generale ale studiului.....	33
5 METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII	34
5.1 Materiale și metode.....	34
6 DESCRIEREA LOTULUI STUDIAT DIN PUNCT DE VEDERE CLINIC, DEMOGRAFIC ȘI HISTOPATOLOGIC.....	46
6.1 Descrierea lotului studiat în funcție de parametri clinici	46

6.2	Descrierea lotului în funcție de indicii histopatologici de prognostic consacrați	52
6.3	Discuții	61
7	ANALIZA LOTULUI STUDIAT DIN PUNCT DE VEDERE DERMATOSCOPIC.....	64
7.1	Caracterizarea lotului studiat în funcție de descrierea dermatoscopică	64
7.2	Corelații statistice între criteriile dermatoscopice și parametrii histopatologici.....	82
7.3	Discuții.....	108
8	CONTRIBUȚII PRIVIND CARACTERIZAREA IMUNOHISTOCHEMICĂ A LOTULUI STUDIAT	111
8.1	Analiza expresiei imunohistochimice CEACAM1	111
8.2	Analiza expresiei imunohistochimice p53	117
8.3	Analiza expresiei imunohistochimice N-caderină	121
8.4	Analiza expresiei imunohistochimice E-caderină.....	129
8.5	Analiza expresiei imunohistochimice VEGF	134
8.6	Discuții.....	147
9	CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	153
9.1	Concluzii	153
9.2	Contribuții personale.....	156
	Bibliografie.....	157
	ANEXE.....	178

I. PARTEA GENERALĂ – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Proliferările melanocitare cutanate sunt o temă intens dezbătută, cu multe descoperiri în decursul anilor, însă incomplet elucidată. Studiile continue sunt esențiale, mai ales în contextul în care tehnologia se află într-o expansiune constantă, oferindu-ne acces la informații cheie care pot elucidă încă necunoscute și pot clarifica aspecte neclare.

Melanomul reprezintă un tip de proliferare melanocitară malignă, fiind unul dintre cele mai agresive tipuri de cancer. Melanomul este în topul celor 5 cele mai frecvente cancere conform statisticii din 2019 a Statelor Unite ale Americii, incidența sa fiind într-o continuă creștere. Cu toate acestea, el este al doilea în top în ceea ce privește rata de supraviețuire față de alte cancere, probabil datorită detectării sale din stadii incipiente. (1)

Mortalitatea prin melanom a scăzut semnificativ în ultimii ani în Statele Unite ale Americii, între 2013 și 2016 scăzând cu 17.9%, după ce a fost în continuă creștere până la acel moment. Se presupune că această schimbare bruscă a apărut în principal datorită introducerii de noi terapii pentru melanomul metastatic, respectiv a conștientizării și educării populației ce a rezultat în detecția din stadii incipiente (71). La acestea se adaugă și îmbunătățirea și răspândirea pe scală largă a metodelor noninvasive de diagnostic de tipul dermatoscopiei.

Mortalitatea în stadiile incipiente de melanom este foarte mică, de cele mai multe ori cura chirurgicală fiind suficientă. Cu toate acestea, există un procent de 2.4% dintre melanoamele din stadiul I și II care au prognostic sumbru, fără să se cunoască motivul pentru care acest subgrup de pacienți are un risc crescut de progresie tumorală (76). În cazul lor, ideale ar fi terapiile personalizate care ar putea *targeta* acești pacienți aflați la risc. Din acest motiv, este necesară cunoașterea cât mai în detaliu a fiziopatologiei melanomului și identificarea rolului cât mai multor molecule implicate în patogeneza sa. Sunt necesari noi biomarkeri pentru stratificarea riscului pacienților cu melanom și detectarea precoce a pacienților la risc.

Studiul imunohistochimic al factorilor de progresie în melanom reprezintă teme de cercetare în continuă dezvoltare în ultimii ani. Odată cu descoperirile terapeutice de tipul imunoterapiei, studiul moleculelor implicate în fiziopatologia melanomului este într-o expansiune continuă în vederea identificării mecanismelor ce pot duce la depistarea de noi terapii.

Alături de molecule veterane precum VEGF, E-caderina, N-caderina și p53, am analizat în prezentul studiu și molecula de adeziune celulară CEACAM1. Din studiile recente, aceasta

pare a avea un rol important în progresia tumorală crescând riscul de metastazare al melanoamelor, chiar din stadii incipiente (2). Observându-se acest aspect în repetate rânduri, cercetătorii din sfera melanomului încearcă țintirea și blocarea acestei molecule ce teoretic ar trebui să oprească evoluția tumorală prin intermediul unui anticorp monoclonal îndreptat împotriva moleculei CEACAM1 (3). În cadrul lucrării, s-au realizat corelații între *markerii* imunohistochimici enumerați și factorii de progresie histopatologici consacrați pentru evaluarea și prognosticul melanoamelor studiate.

Dermatoscopia este un alt subiect de actualitate în evaluarea leziunilor melanocitare ce facilitează identificarea melanomului. De-a lungul ultimilor ani, s-au pus bazele diagnosticului melanomului și diferențierea sa de leziuni benigne, fapt ce a determinat identificarea tumorilor din stadii incipiente. Modificările discrete ale unor melanoame subțiri nu pot fi observate clinic, însă cu ajutorul dermatoscopiei acestea se pot detecta și supraveghea în timp. Caracteristicile dermatoscopice ale leziunilor melanocitare sunt în continuă descoperire cu studii intense în acest domeniu.

Se lucrează la rafinarea aspectelor dermatoscopice pentru identificarea semnelor precoce, respectiv se încearcă identificarea pacienților la risc. Pentru acest lucru ar fi utile studii ce urmaresc în paralel aspectele dermatoscopice și imunohistochimice. Una din direcțiile de cercetare ale acestei teze este reprezentată de corelațiile dintre aspectele dermatoscopice din melanom și studiul imunohistochimic al factorilor de progresie tumorală (VEGF, p53, E-caderină, N-caderină, CEACAM1), care reprezintă și o contribuție personală adusă cercetării.

Așadar, ca și prospecte de viitor, ar fi utile mai multe studii ce evaluează comparativ melanoamele din punct de vedere dermatoscopic și imunohistochimic pentru detectarea de pacienți la risc de progresie tumorală, respectiv, odată cu identificarea de terapii inovatoare, selectarea tratamentelor specifice unor pacienți fără examen histopatologic în prealabil.

II. PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE

4 IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE ALE STUDIULUI

4.1 Ipoteza de lucru

Scopul principal al acestei cercetări constă în evaluarea detaliată și exhaustivă a mecanismelor fiziopatologice implicate în progresia tumorală a melanomului cutanat primar, precum și identificarea de noi factori prognostici și de severitate a bolii.

Cu o incidență în continuă creștere, melanomul prezintă un prognostic favorabil doar detectat în stadii incipiente, iar pentru acest lucru sunt esențiale metode de diagnostic precoce al melanomului. Cunoașterea cât mai în detaliu a mecanismelor fiziopatologice implicate în patogeneza melanomului pot aduce informații noi în ceea ce privește prognosticul tumoral și identificarea pacienților la risc de progresie a bolii. În cadrul prezentului studiului, am evaluat melanoame și nevi displazici și nevi melanocitari comuni din punct de vedere clinic și demografic, precum și cu ajutorul metodelor histopatologice, imunohistochimice și dermatoscopice de actualitate. Prin analiza datelor și corelațiilor s-a tentat identificarea de factori de risc și prognostici ai melanomului, alături de detectarea pacienților cu potențial de progresie tumorală.

4.2 Obiective generale ale studiului

În vederea atingerii acestui scop, s-au avut în vedere următoarele obiective generale:

- Analiza aspectelor clinice și demografice ale leziunilor melanocitare cutanate înrolate cu obiectivul de a identifica cei mai relevanți factori de risc ai melanomului
- Descrierea aspectelor dermatoscopice caracteristice melanomului cutanat, precum și identificarea corelațiilor dintre acestea și parametrii histopatologici cu scopul de a facilita diagnosticul precoce, respectiv evidențierea indicatorilor de severitate a bolii
- Extinderea domeniului cunoașterii în ceea ce privește factorii de prognostic și progresie ai melanomului prin analiza parametrilor histopatologici consacrați și a markerilor imunohistochimici de actualitate
- Identificarea corelațiilor dintre caracteristicile dermatoscopice ale melanomului și markerii imunohistochimici în vederea depistării unor aspecte imagistice ce pot sugera progresia tumorală înainte de evaluarea histopatologică a melanomului cutanat excizat

5 METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII

5.1 Materiale și metode

Prezenta lucrare reprezintă un studiu observațional prospectiv realizat în perioada 2017-2019 cu elemente de tip caz-control. Acesta a inclus 58 de pacienți cu diagnosticul de nev melanocitar comun, nev displazic și melanom ce au fost evaluați în cadrul Spitalului Clinic Colentina clinic și dermatoscopic, iar după excizia chirurgicală leziunile au fost prelucrate și evaluate histopatologic și imunohistochimic în cadrul secției de Anatomie Patologică a Spitalului Colentina și a Laboratorului de Medicină Experimentală și Cercetare Fundamentală din Departamentul II de Fiziopatologie a Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București.

Lotul de pacienți face parte din proiectului de cercetare CNCS-UEFISCDI, PN-III-P4-ID-PCE-2016-0641, crt nr 183/2017, în cadrul PNCDI III, proiect finanțat de către Ministerul Cercetării și Inovării, cu titlul “Caracterizarea mecanismelor ce implică CEACAM1 în melanom pe baza studiului regresiei tumorale, o abordare inovatoare pentru optimizarea managementului pacienților cu melanom subțire” – CEACAMMEL. Pentru acest studiu s-a obținut aprobarea Comisiei de Etică a Cercetării Științifice a Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București. (ANEXA 2)

Criterii de includere:

- Pacienți cu suspiciune clinică și dermatoscopică de leziune melanocitară, confirmată apoi prin examen histopatologic – nev, nev displazic, melanom
- Prezența descrierii histopatologice complete
- Leziuni excizate integral
- Lotul cu *markeri* pentru imunohistochimie - pacienții cu tumoră suficient de mare pentru a putea fi evaluată imunohistochimic și fără a periclita diagnosticul histopatologic

Criterii de excludere:

- Pacienți cu suspiciune clinică și/sau dermatoscopică de leziunile melanocitară, infirmată prin examen histopatologic
- Pacienți cu leziuni la nivelul mucoaselor pentru lotul de dermatoscopie
- Pacienții fără imagini dermatoscopice înregistrate din lotul pentru dermatoscopie

Cazurile de leziuni melanocitare selectate au fost evaluate clinic și dermatoscopic în cadrul Spitalului Clinic Colentina. Pacienții au fost informați și au semnat inițial un acord informat cu privire la studiul în desfășurare. În evaluarea imagistică, s-au utilizat două tipuri de dermatoscop, ambele cu magnificare de 10x, Dermlite DL4 și Dermlite ProHR. Imaginile dermatoscopice au fost înregistrate și stocate în format electronic pentru o analiză amănunțită ulterioară și precizie diagnostică mai mare.

Leziunile melanocitare cutanate au fost ulterior excizate și analizate microscopic, piesele fiind fixate în formol și parafină, pas necesar pentru efectuarea examenului histopatologic. Dintre pacienții diagnosticați clinic cu leziuni melanocitare cutanate (nev, nev displazic, melanom), au fost apoi selectați pentru analiza imunohistochimică doar pacienți confirmați histopatologic cu unul dintre aceste diagnostice. Atât examenul histopatologic, cât și colorarea lamelor de imunohistochimie au fost realizate în cadrul Secției de Anatomie Patologică a Spitalului Clinic Colentina. Interpretarea și fotografierea lamelor de imunohistochimie au fost ulterior efectuate în cadrul Laboratului de Medicină Experimentală și Cercetare Fundamentală din Departamentul II de Fiziopatologie al Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București. O parte dintre pacienții evaluați clinic nu au putut fi evaluați imunohistochimic, fie din cauza unei cantități insuficiente de țesut (pentru a nu periclita diagnosticul), fie din lipsa blocului la parafină din histotecă. Au fost realizate blocuri multitisulare care ulterior au fost secționare și colorate cu markerii imunohistochimici pentru evidențierea progresiei melanomului: VEGF, p53, E-caderină, N-caderină și CEACAM1.

În urma acestor etape, a rezultat un lot de 58 de leziuni melanocitare cutanate, dintre care 35 de melanoame, 6 nevi displazici și 17 nevi melanocitari comuni, pentru care s-a efectuat analiza dermatoscopică. Colorațiile imunohistochimice s-au realizat pentru 24 melanoame și 10 nevi (2 nevi displazici și 8 nevi comuni).

Au fost urmate protocoalele de lucru pentru orientarea și prelucrarea pieselor în vederea efectuării examenului histopatologic și imunohistochimic ale specialității Anatomie Patologică aflate în vigoare și publicate în Monitorul Oficial nr.723 din 29 octombrie 2010 (221), emise de Ministerul Sănătății, detaliate în ANEXA 3.

Criterii de evaluare clinică și histopatologică

Pacienții înrolați în cadrul studiului au fost analizați în funcție de o serie de parametri.

Indicatori clinici și demografici: vârstă, sex, mediu de reședință, localizare tumorală, hemicorp, diagnostic histopatologic.

Indicatori histopatologici pentru lotul de melanoame: indice Breslow, indice Clark, rata mitotică, prezența ulcerăției, prezența, cantitatea și tipul de infiltrat inflamator tumoral, prezența regresiei tumorale, a invaziei limfovaskulare, a nodulilor tumorali sateliți sau a invaziei perineurale.

Criterii de evaluare dermatoscopică

În ceea ce privește dermatoscopia, s-au urmărit cele 11 criterii dermatoscopice observate a fi specifice pentru melanom descrise de Marghoob *et al* (214). Acestea au fost descrise atât pentru lotul de nevi, cât și pentru cel de melanoame.

1. *Rețeaua pigmentară atipică*
2. *Linii angulare*
3. *Streaks*
4. *Rețea negativă de pigment*
5. *Linii albe lucioase/ Structuri cristaline*
6. *Puncte și globuli atipici*
7. *Blotch atipică (pată atipică)*
8. *Văl alb-albastru suprapus zonelor elevate*
9. *Structuri de regresie - zone scar-like, peppering (granularitate), respectiv văl alb-albastru pe zone maculare.*
10. *Structuri vasculare atipice (vase punctate, vase serpiginoase, vase polimorfe, globuli roșii, zone roșu-lăptoase)*
11. *Zone astructurale maronii periferice*

Criterii de evaluare imunohistochimică

- *VEGF* – procent de celule pozitive, măsurat în hot spot, obiectiv 40x; intensitate reacție (negativ, slab, moderat, intens);

S-a calculat un indice VEGF prin însumarea dintre intensitatea reacției, respectiv de distribuția colorației. S-a atribuit câte o cifra de la 0 la 3 pentru intensitatea colorației (negativ, slab, moderat, intens), respectiv câte o cifra de la 0 la 3 pentru distribuția colorației VEGF (0%,

1-25%, 25-50%, >50%). Indicele VEGF negativ a fost reprezentat de intervalele 0-2, indicele VEGF intermediar 3-4, respectiv indicele VEGF puternic 5-6.

- *p53* – s-a considerat a fi reacție prezentă sau absentă în funcție de: procentul de celule pozitive, măsurat în hot spot, obiectiv 40x și intensitatea reacției (negativ, slab, moderat, intens)
- *E-caderină* – s-a considerat a fi reacție prezentă sau absentă în funcție de: procentul de celule pozitive, măsurat în hot spot, obiectiv 40x; intensitatea reacției (negativ, slab, moderat, intens)
- *N-caderină* – s-a considerat a fi reacție prezentă sau absentă în funcție de: procentul de celule pozitive, măsurat în hot spot, obiectiv 40x; intensitatea reacției (negativ, slab, moderat, intens)
- *CEACAM1* – s-a considerat a fi reacție prezentă sau absentă în funcție de: procentul de celule pozitive, măsurat în hot spot, obiectiv 40x; intensitatea reacției (negativ, slab, moderat, intens)

Analiza statistică și baza de date a fost realizată cu ajutorul programului IBM SPSS Statistics 21. Testele statistice folosite au fost următoarele:

Testul Chi-Pătrat – acest test este utilizat pentru a evalua existența unei relații statistice între două variabile nominale/dihotomice.

Coeficientul de corelație Phi este o măsură a relației statistice între două variabile nominale dihotomice (cu două categorii). Acesta variază între -1 și 1, exprimând direcția și puterea relației dintre cele două variabile. Valorile negative indică o relație inversă, valorile pozitive indică o relație directă, iar valoarea 0 indică lipsa unei relații.

Coeficientul de corelație V a lui Cramer este o măsură a relației statistice între două variabile nominale sau ordinale. Coeficientul de corelație V variază între 0 și 1, indicând puterea și direcția relației dintre cele două variabile. O valoare mai apropiată de 0 indică o relație slabă, în timp ce o valoare apropiată de 1 indică o relație puternică.

Testul Mann – Whitney U este un test neparametric folosit pentru a determina dacă există diferențe între două grupuri independente atunci când variabila dependentă este fie ordinală, fie continuă, însă neavând o distribuție normală.

6 DESCRIEREA LOTULUI STUDIAT DIN PUNCT DE VEDERE CLINIC, DEMOGRAFIC ȘI HISTOPATOLOGIC

Rezultate și discuții

Cei 58 de pacienți incluși în studiul prospectiv au avut vârste cuprinse între 17 și 87 de ani, vârsta medie fiind de 55.21 ani. Decada de vârstă cu cei mai numeroși pacienți (24.14% - 14 pacienți) a fost decada a 7-a (61-70 ani). Mai mult de jumătate dintre pacienți au avut peste 60 ani.

În ceea ce privește melanomul, se observă tot decada 61-70 ani ca având cea mai mare proporție dintre pacienți, 34% dintre tumorile maligne (12 pacienți). Vârstele au variat între 33 și 87 de ani, jumătate dintre ei având peste 67 de ani. Vârsta medie a pacienților cu melanom a fost de 63.54 de ani în contrast cu cea a pacienților cu nevi care a fost 42.52 ani. Astfel, se constată faptul că melanomul tinde să fie asociat cu o vârstă mai înaintată decât neviile comuni (cu semnificație statistică), un factor de risc cunoscut de altfel în literatură pentru melanom fiind vârsta înaintată și reconfirmat de prezentul studiu.

În ceea ce privește sexul, lotul de pacienți a fost alcătuit echilibrat (29 femei și 29 de bărbați). Lotul de melanoame a inclus 19 femei și 16 bărbați. S-a observat că femeile au prezentat mai frecvent IB<1 mm, pe când bărbații au prezentat mai frecvent IB>4 mm. Este de remarcat faptul că pacienții de sex masculin cu melanom prezintă forme mai avansate de boală, respectiv femeile sunt diagnosticate în stadii mai incipiente. Lucrul acesta poate fi explicat prin faptul că femeile sunt mai preocupate de aspectul fizic și se prezintă la medic mai devreme spre deosebire de bărbați, fapt ce vine în avantajul acestora.

O proporție de 81% dintre pacienți locuiesc în mediul urban, acest lucru putând fi justificat de adresabilitatea mai mare și accesul mai facil la sistemul medical al acestor pacienți față de cei din mediul urban.

Localizarea cea mai frecventă a tumorilor de tip melanom a fost trunchiul posterior, urmată de membrele superioare, precum și cap și gât, așadar zonele cele mai expuse la radiațiile ultraviolete. Hemicorpul cel mai frecvent afectat a fost partea dreaptă cu 60% dintre cazuri și doar 37.14% afectând partea dreapta.

Lotul studiat a prezentat în cea mai mare proporție, 42.86%, cazuri incipiente cu IB<1 mm (n=15), fiind urmat de 8.57% IB=1.01-2 mm, 20% IB=2.01-4 mm, respectiv 28.57% IB>4 mm.

Indicele Breslow este cunoscut ca fiind cel mai puternic indicator al stadiului tumoral și al progresiei tumorale.

În ceea ce privește adâncimea la care s-a infiltrat melanomul, indicele Clark cel mai întâlnit a fost IV cu o frecvență de aproape 2 din 3 melanoame (65,71% din cazuri). Indicele Clark I, II și III s-au regăsit exclusiv la pacienții cu IB <1 mm, pe când indicele Clark IV a fost prezent în cazul tuturor categoriilor de IB. Indicele Clark V a fost observat doar la melanoamele cu IB >4 mm.

Melanoamele incluse în studiu au prezentat în proporție de 60% între 0-5 mitoze/mm². S-a constatat că pacienții care au prezentat până în maxim o mitoză pe mm² au cea mai mare probabilitate să fie descoperite într-un stadiu incipient (toate au avut IB <1 mm), pe când pacienții cu peste 5 mitoze/mm² prezintă un risc mai mare de melanom avansat (toate tumorile din această categorie având un IB >1 mm).

Ulcerația descrisă la examenul histopatologic, un alt factor de risc, a fost prezentă mai rar, la sub o treime din cazuri în lotul studiat. La compararea pacienților cu melanom cu și fără ulcerăție în relație cu indicele Breslow se constată că ulcerăția a fost prezentă la tumorile cu indice Breslow peste 2 mm. Tumorile cu ulcerăție absentă au avut în proporție de 60.87% indice Breslow <1mm (n=14 din 23 fără ulcerăție), deci un stadiu tumoral incipient. Așadar, melanoamele cu ulcerăție prezentă la examenul histopatologic sugerează mai degrabă o formă tumorală mai avansată cu un risc crescut de progresie și cu un prognostic nefavorabil în comparație cu melanomele fără ulcerăție prezentă. În plus, pacienții cu melanom au avut prezentă ulcerăția doar în cazurile cu indice Clark IV sau V, deci implicit o profunzime tumorală mai mare.

În ceea ce privește infiltratul inflamator, 3 din 4 melanoame din lotul studiat au prezentat această caracteristică la examenul histopatologic. Dintre acestea, 42.31% au avut o cantitate minimă, respectiv 50% au avut o cantitate moderată de infiltrat inflamator tumoral descris. Comparând tipul de infiltrat inflamator, aproape 70% au avut prezent infiltrat inflamator tip *non-brisk* și doar 30% *brisk*. Nu s-a putut evidenția un model semnificativ statistic la compararea infiltratului inflamator cu indicele Breslow, însă se poate observa ca prezența lui crește odată cu creșterea grosimii tumorale în cazul lotului studiat. Așa cum și în literatură sunt studii cu rezultate contradictorii, în cazul nostru se observă o ușoară tendință a acestui aspect histopatologic de a sugera un risc crescut de progresie tumorală.

Regresia tumorală a fost remarcată la aproximativ 35% dintre pacienții cu melanom, însă fără o tendință de asociere cu grosimea tumorală.

Melanoamele din prezentul studiu au avut în proporție de 17.65% invazie limfovaculară, 8.82% noduli tumorali sateliți, respectiv niciun melanom nu a prezentat invazie perineurală. Atât invazia limfovaculară, cât și nodulii tumorali sateliți au fost prezenți la melanome cu grosime tumorală peste 1 mm.

7 ANALIZA LOTULUI STUDIAT DIN PUNCT DE VEDERE DERMATOSCOPIC

Rezultate și discuții

La analiza statistică a lotului studiat, s-au remarcat unele caracteristici dermatoscopice ca fiind specifice pentru melanom. Așadar, mai frecvent întâlnite în cazul tumorii de tip melanom și cu semnificație statistică au fost: liniile cristaline, vâlul alb-albastru pe zonă elevată, *peppering-ul*, vasele atipice în general și specific vasele punctate, vasele serpiginoase, zonele roșu-lăptoase, globulii roșii și vasele polimorfe. Restul structurilor dermatoscopice nu au avut semnificație statistică la compararea dintre lotul de melanoame și lotul control (nevii comuni și nevii displazici).

La analiza specifică a melanoamelor în funcție de parametrii histopatologici de progresie consacrație, s-au identificat următoarele aspecte:

Rețeaua pigmentară atipică, respectiv aspectul dermatoscopic *streaks* s-a asociat (semnificativ statistic) mai degrabă cu un indice Breslow mai mic. Acest lucru sugerează faptul că melanoamele incipiente prezintă mai frecvent rețea atipică și *streaks* decât melanoamele avansate.

Incidența vaselor punctate, vaselor serpiginoase și a vaselor polimorfe descrise la dermatoscopie s-a remarcat a crește odată cu creșterea indicelui Breslow, deci se asociază cu progresia tumorală, fiind mai frecvente în cazul melanoamelor mai avansate.

Fără să existe o semnificație statistică dovedită, pe baza reprezentărilor grafice s-a constatat că prezența punctelor atipice, a globulilor atipici și a aspectului tip *streaks* la dermatoscopie se asociază cu melanoame mai subțiri.

În ceea ce privește indicele Clark, rețeaua pigmentară atipică și structurile de regresie au fost observate mai frecvent în cazul melanoamelor aflate în straturi mai superficiale. Vasele atipice se regăsesc în proporție semnificativ mai mare în cazul melanomelor profunde cu indice Clark IV și V, însă nu exclusiv (se pot regăsi și în melanoame superficiale).

S-a remarcat că vasele atipice, respectiv vasele polimorfe, vasele punctate, vasele serpiginoase și globulii roșii au fost descrise mai frecvent la dermatoscopie în cazul melanoamelor odată cu creșterea ratei mitotice. Așadar, aceste aspecte dermatoscopice sugerează un risc de progresie tumorală crescută.

Ulcerația la examenul histopatologic a fost invers asociată față de prezența rețelei pigmentare atipice, sugerând că aspectul dermatoscopic descris anterior se corelează cu forme incipiente de melanom, neulcerate. În contrast, vasele polimorfe, vasele punctate, vasele serpiginose și globlii roșii au tendința de asociere cu prezența ulcerației, indicând o corelație a acestor caracteristici dermatoscopice cu forme tumorale avansate, ulcerate.

Prezența invaziei limfovaskulare la examenul histopatologic s-a corelat cu descrierea la dermatoscopie a liniilor cristaline, a vaselor punctate, a vaselor serpiginose și a vaselor polimorfe, sugerând prezența lor într-un stadiu aflat în progresie tumorală.

S-a constatat că regresia tumorală prezentă la examenul histopatologic se corelează și cu *peppering*-ul care sugerează regresia tumorală la descrierea dermatoscopică. În plus, aceasta s-a asociat și cu prezența vălului alb-albastru pe zonă elevată. Totuși, fără semnificație statistică, însă sugestivă la reprezentările grafice, și celelalte structuri de regresie dermatoscopice de tipul vălului alb-albastru pe maculă, respectiv zonele *scar-like* au fost prezente într-o proporție mai mare în cazul leziunilor cu regresie descrisă la examenul histopatologic.

Așa cum am amintit și în articolul din *Romanian Journal of Clinical Research* (225) se remarcă faptul că prezența vaselor atipice la dermatoscopie (vase polimorfe, vase serpiginose, vase punctate, etc) stratifică pacienții cu risc crescut de progresie tumorală și sugerează necesitatea unei excizii mai prompte și cu margini de siguranță mai largi la momentul diagnosticării datorită prezenței unor forme mai avansate de melanom.

Prezentul studiu ne aduce un pas mai aproape către posibilitatea formulării unor algoritmi ce pot prezice stadiile melanomului prin simpla analiză imagistică noninvazivă denumită dermatoscopie.

8 CONTRIBUȚII PRIVIND CARACTERIZAREA IMUNOHISTOCHIMICĂ A LOTULUI STUDIAT

Rezultate și discuții

În ceea ce privește analiza imunohistochimică a lotului studiat, au fost studiate expresiile unor markeri cunoscuți (VEGF, p53, N-caderină, E-caderină), respectiv a altora mai puțin cunoscuți precum CEACAM1 în lotul prezent de melanoame, nevi displazici și nevi melanocitari comuni. Elementul de noutate adus cercetării este reprezentat de corelațiile dintre expresiile acestor *markeri* de progresie tumorală și aspectele specifice de melanom descrise la dermatoscopie. În plus, o noutate pentru cercetarea din România este expresia moleculei de adeziune celulară CEACAM1 în cadrul melanomului, prezenta lucrare fiind unul dintre primele studii ce a evaluat prezența *marker*-ului în leziunile melanocitare cutanate.

Am remarcat din analiza expresiei markerului CEACAM1 că acesta se asociază statistic în lotul studiat cu o rată mitotică crescută (peste 5 mitoze/mm²), respectiv cu prezența ulcerăției la examenul histopatologic. În plus, există corelații statistice și cu prezența infiltratului inflamator la histopatologie. Aceste observații indică faptul că expresia CEACAM1 sugerează un stadiu avansat al melanomului, în care tumora progresează rapid, cu o rată de diviziune celulară accelerată și un risc crescut de metastazare, aspecte evidențiate și de studii precedente.

Fără semnificație statistică, însă demne de menționat ar fi observațiile cu privire la grosimea și adâncimea tumorală. S-a constatat că CEACAM1 este mai adesea pozitiv în rândul melanoamelor cu indice Breslow peste 4 mm, iar incidența sa crește odată cu creșterea indicelui Clark.

Expresia CEACAM1 s-a observat a fi mai frecvent crescută atunci când au fost descrise vase de tipul punctate, serpiginoase, polimorfe sau zone roșu-lăptoase la dermatoscopie. În contrast, globulii atipici și zonele *scar-like* au fost mai frecvent pozitive atunci când expresia CEACAM1 a fost una negativă. Aceste remarci cu privire la aspectele dermatoscopice indică prezența CEACAM1 în melanoamele din stadii avansate, aflate în progresie tumorală.

Markerul p53 s-a corelat statistic cu prezența vaselor polimorfe la dermatoscopie, deci cu o caracteristică a melanoamelor avansate, aflate în progresie. O expresie pozitivă p53 a fost mai adesea constatată în rândul leziunilor cu *peppering*, *streaks*, vase punctate, vase atipice și zone roșu lăptoase.

Deși fără asociere statistică, s-a remarcat faptul că expresia p53 a fost pozitivă mai frecvent în cazurile cu o rată mitotică crescută, respectiv odată cu prezența invaziei limfovaskulare, a nodulilor tumorali sateliți și a ulcerăției la examenul histopatologic.

Un alt *marker* de progresie tumorală analizat imunohistochimic a fost VEGF, a cărui expresie a fost observată a crește odată cu creșterea grosimii tumorale. În plus, indicele VEGF se corelează cu prezența ratei mitotice de peste 5 mitoze/mm². Cele două observații susțin ideea că VEGF reprezintă un indice al stadiilor avansate de melanom și al progresiei tumorale, sugerând un prognostic negativ.

Am remarcat asocieri semnificative statistic și între expresia VEGF și liniile cristaline, *peppering*, vase atipice, vase punctate, vase serpiginoase, globuli roșii și vase polimorfe. VEGF indică neoangiogeneza, iar corelația cu aspectele dermatoscopice vasculare este una logică, sugerând la rândul lor un stadiu avansat tumoral.

Am constatat o corelație statistică și între expresia VEGF și a N-caderinei, ambii fiind *markeri* de progresie tumorală, iar fără asociere statistică, însă relevant din punct de vedere al graficelor expresia CEACAM1 și p53 negativă a fost asociată mai frecvent cu un VEGF negativ, iar CEACAM1 și p53 pozitive au fost observate mai adesea împreună cu o expresie pozitivă VEGF (intermediar, respectiv intens).

În completarea observațiilor anterioare, deși fără semnificație statistică, s-au remarcat la analiza graficelor remarci similare cu privire la VEGF și rolul său ca factor de progresie tumorală și de indicator al stadiilor avansate de boală. Printre acestea, cele mai relevante sunt expresia intensă a indicelui VEGF mai frecvent odată cu descrierea invaziei limfovaskulare, respectiv a nodulilor tumorali sateliți la examenul histopatologic, deci factori ce sugerează progresia și riscul de metastazare al melanomului. În plus, VEGF este intens pozitiv mai adesea în cazul melanoamelor cu aspecte dermatoscopice de tipul *streaks*, sau cele fără rețea atipică, globuli atipici sau structuri de regresie precum zonele *scar-like*.

Un indice intermediar VEGF s-a remarcat mai frecvent în cazul leziunilor cu regresie, infiltrat inflamator și ulcerăție prezente la examenul histopatologic, iar în ceea ce privește caracteristicile dermatoscopice a fost observat mai adesea în rândul leziunilor melanocitare cu zone roșu lăptoase, structuri de regresie, globuli atipici, zone *scar-like* și cele fără *streaks*.

Expresia negativă a VEGF a apărut mai frecvent când au lipsit invazia limfovaskulară, nodulii tumorali sateliți, ulcerăția, infiltratul inflamator sau regresia tumorală, iar

dermatoscopic a fost asociată cu prezența rețelei pigmentare atipice, liniile angulare și cu absența zonelor roșu-lăptoase sau a elementelor *streaks*.

Markerul N-caderină a fost corelat statistic cu indicele Breslow, rata mitotică și prezența infiltratului inflamator tip *non-brisk*, acesta fiind mai frecvent pozitiv odată cu creșterea grosimii tumorale, majoritatea cazurilor aflându-se în categoria peste 4 mm, respectiv mai frecvent la peste 5 mitoze/mm². S-a remarcat o frecvență mai mare în cazul melanoamelor cu noduli tumorali sateliți prezenți, respectiv cu ulcerare descrisă la examenul histopatologic. Aceste aspecte sugerează expresia N-caderinei mai frecvent în cazul pacienților cu melanom avansat aflat în progresie tumorală și cu prognostic negativ.

N-caderina s-a observat a se asocia cu melanoamele cu regresie, atât dermatoscopic prin corelarea cu aspectul *peppering*, cât și histopatologic.

Aspecte dermatoscopice corelate statistic cu expresia N-caderinei au fost vasele polimorfe și zonele roșu-lăptoase, iar în plus, fără asociere statistică, dar cu frecvență crescută se observă leziunile cu prezența vaselor atipice, serpiginoase, punctate și globulii roșii. Toate aceste particularități sugerează asocierea N-caderinei cu formele avansate de melanom.

În ceea ce privește ceilalți *markeri* imunohistochimici, s-a constatat că N-caderina a fost mai des identificată în cazul leziunilor melanocitare care au prezentat și o expresie pozitivă a CEACAM1 și p53.

Dacă restul markerilor au avut o tendință de a fi prezenți mai ales în cazul melanoamelor, în ceea ce privește E-caderina, aceasta a avut o expresie crescută în ambele loturi, însă cu o afinitate ușor mai mare pentru lotul de nevi. În contrast cu această observație, în lotul de melanoame, E-caderina a fost prezentă mai frecvent în rândul melanoamelor cu particularități de tumoră avansată atât histopatologic, cât și dermatoscopic. În plus, expresia E-caderinei a fost pozitivă mai frecvent în cazul leziunilor CEACAM1 și N-caderin pozitive și odată cu creșterea indicelui VEGF.

Rezultatele atipice în ceea ce privește E-caderina pot fi asociate heterogenității lotului studiat și a numărului limitat de pacienți, respectiv a plasticității celulelor tumorale care își pot modifica fenotipul în funcție de necesitățile locale și pot alterna între stările pozitive/negative ale *markerului* pentru a-și satisface nevoile de moment și pentru a reuși să invadeze în stadiul proliferativ în țesuturile mai profunde, fapt constatat și de alte studii anterioare.

9 CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

9.1 Concluzii

Concluzii despre factorii de risc clinico-patologici

Din punct de vedere al factorilor de risc clinico-patologici, în lotul studiat s-a remarcat prevalența cea mai ridicată a melanoamelor în decada 61-70 de ani, localizarea la nivelul zonelor anatomice fotoexpuse și al hemicorpului drept, la locuitorii din mediul urban; formele agresive de melanom au predominat la pacienții de sex masculin.

Majoritatea melanoamelor din lotul studiat (peste 55%) au prezentat cel puțin un criteriu histopatologic asociat cu prognostic negativ: indice Breslow >1 mm, indice Clark IV/V, prezența ulcerăției, rata mitotică peste 5 mitoze/mm².

Concluzii cu privire la aspectele dermatoscopice

În urma analizei lotului de tumori melanocitare, am identificat aspecte dermatoscopice corelate statistic cu melanomul, precum liniile cristaline, vâlul alb-albastru pe zonă elevată, *peppering*-ul și vasele atipice (vase punctate, serpiginoase, zone roșu-lăptoase, globuli roșii, vase polimorfe).

În ceea ce privește caracteristicile dermatoscopice care s-au observat a fi întâlnite mai frecvent în rândul melanoamelor incipiente se pot enumera rețeaua pigmentară atipică, aspectul *streaks* și structurile de regresie dermatoscopice.

În contrast, melanoamele avansate cu risc crescut de progresie tumorală au fost mai adesea asociate cu aspecte dermatoscopice vasculare – vase punctate, polimorfe, serpiginoase, globuli roșii, respectiv liniile cristaline. Acestea s-au corelat fie cu un indice Breslow crescut, fie cu o rată mitotică crescută, cu prezența ulcerăției sau a invaziei limfovaskulare.

Peppering-ul ca și structură dermatoscopică de regresie s-a constatat că se asociază semnificativ statistic cu regresia tumorală descrisă la examenul histopatologic. În plus, regresia microscopică este corelată și cu prezența vâlului alb-albastru pe zonă elevată la dermatoscopie.

Concluzii despre expresia markerilor imunohistochimici

În lotul analizat, pozitivitatea CEACAM1 s-a corelat cu indicatori histopatologici asociați stadiilor avansate ale melanomului, cu progresie rapidă și risc de metastazare relevant: rata mitotică crescută, prezența ulcerăției, prezența infiltratului inflamator, indicele Breslow peste 4 mm, indice Clark crescut.

În lotul analizat, pozitivitatea CEACAM1 s-a corelat cu indicatori dermatoscopici de tipul vaselor punctate, serpiginoase, polimorfe sau zonelor roșu-lăptoase; absența CEACAM1 s-a corelat cu indicatori dermatoscopici de tipul globulilor atipici și zonelor scar-like, putând specula, de asemenea, o posibilă asociere a pozitivității CEACAM1 cu progresia tumorală agresivă.

Am identificat, de asemenea, că expresia imunohistochimică a markerilor p53, VEGF și N-caderină se asociază cu progresia tumorală și prognosticul negativ în ceea ce privește stadializarea melanoamelor.

În cadrul studiului, s-a remarcat asocierea dintre expresia pozitivă a markerului p53 și aspectele dermatoscopice de tipul vaselor polimorfe, *peppering*, *streaks*, vase punctate, vase atipice și zone roșu-lăptoase, majoritatea fiind caracteristice melanoamelor avansate.

S-a observat la analiza expresiei p53 o frecvență crescută în rândul melanoamelor aflate în progresie tumorală și având prognostic negativ, asociind rată mitotică crescută, prezența invaziei limfovaskulare, a nodulilor tumorali sateliți și a ulcerăției

La rândul său, și VEGF s-a constatat că se asociază cu indicatori histopatologici de progresie tumorală și de prognostic nefavorabil printre care indicele Breslow, o rată mitotică de peste 5 mitoze/mm², respectiv expresia sa este mai frecvent intens pozitivă odată cu prezența invaziei limfovaskulare și a nodulilor tumorali sateliți. Un indice intermediat VEGF s-a remarcat că apare mai adesea la melanoamele cu regresie tumorală, cu infiltrat inflamator și ulcerăție prezente histopatologic, iar expresia negativă a VEGF a fost prezentă mai frecvent când au lipsit invazia limfovaskulară, nodulii tumorali sateliți, ulcerăția, infiltratul inflamator tumoral sau regresia tumorală, sugerând aceeași idee de marker ce identifică cazurile avansate de melanom.

În ceea ce privește aspectele dermatoscopice, expresia VEGF s-a corelat statistic cu prezența liniilor cristaline, a *peppering*-ului, a vaselor atipice, vaselor punctate, vaselor serpiginoase, a globulilor roșii și a vaselor polimorfe. Întrucât VEGF indică neoangiogenează la nivel tumoral, corelația cu indicatorii dermatoscopici vasculari este una de așteptat sugerând împreună un stadiu avansat al melanomului. Un indice VEGF intens pozitiv s-a remarcat mai frecvent odată cu absența rețelei pigmentare atipice, a globulilor atipici sau a zonelor scar-like, respectiv prezența aspectului *streaks*. VEGF negativ s-a asociat mai adesea cu rețeaua pigmentară atipică, liniile angulare și cu absența zonelor roșu-lăptoase sau a aspectului *streaks*.

Aceste observații sunt în conformitate cu caracterul agresiv al melanomului pe care îl sugerează expresia pozitivă VEGF.

Markerul N-caderină s-a remarcat a se corela cu indicatori histopatologici ce sugerează stadii avansate tumorale precum indicele Breslow (majoritatea cazurilor pozitive în categoria peste 4 mm), rata mitotică crescută (peste 5 mitoze/mm²), respectiv prezența infiltratului inflamator tip *non-brisk*. O frecvență crescută a N-caderinei s-a regăsit la pacienții cu noduli tumorali sateliți și cu ulcerare descrise la examenul histopatologic.

N-caderina s-a observat a se asocia cu melanoamele cu regresie, atât dermatoscopic prin corelarea cu aspectul *peppering*, cât și histopatologic.

Corelațiile dintre prezența N-caderinei și aspectele dermatoscopice au fost cu vasele polimorfe și zonele roșu lăptoase, respectiv o frecvență crescută s-a remarcat odată cu prezența vaselor atipice, serpiginoase, punctate și globulii roșii, toate observațiile sugerând prezența unor forme de melanom aflate în progresie tumorală.

Dacă restul markerilor au avut o tendință de a fi prezenți mai ales în cazul melanoamelor, în ceea ce privește E-caderina, aceasta a avut o expresie crescută în ambele loturi, însă cu o afinitate ușor mai mare pentru lotul de nevi. În contrast cu această observație, în lotul de melanoame, E-caderina a fost prezentă mai frecvent în rândul melanoamelor cu particularități de tumoră avansată atât histopatologic, cât și dermatoscopic.

În cadrul studiului, s-au remarcat și asocieri între markerii IHC evaluați, subliniind ideea că fiecare poate sugera o progresie tumorală, respectiv un caracter mai agresiv tumoral și un prognostic nefavorabil prin mecanisme diverse, de unde și heterogenitatea corelațiilor cu ceilalți indicatori. Indicele VEGF s-a corelat cu expresia N-caderinei la IHC, respectiv expresia VEGF a fost mai frecvent negativă atunci când și CEACAM1 și p53 au fost negative. N-caderina s-a constatat mai frecvent în rândul tumorilor cu expresie pozitivă a CEACAM1 și p53. În plus, expresia E-caderinei a fost pozitivă mai frecvent în cazul leziunilor CEACAM1 și N-caderină pozitive și odată cu creșterea indicelui VEGF.

Un dezavantaj al prezentului studiu a fost reprezentat de numărul scăzut de pacienți pentru care s-a efectuat imunohistochimia, motiv pentru care s-au observat diferențe între caracteristicile prezentate, însă nu toate având semnificație statistică. Sunt necesare studii de completare a informațiilor prezentate în această cercetare pe loturi mai mari de pacienți și pe

perioade mai îndelungate, iar în plus ar fi utile și corelații cu date despre supraviețuirea acestor pacienți pentru a putea identifica aspectele ce țin de mortalitatea melanomului.

9.2 Contribuții personale

În această teză de doctorat, elementul cel mai valoros din punctul de vedere al originalității este reprezentat de analiza imunohistochimică a markerului CEACAM1 în tumorile melanocitare, expresia acestui marker fiind considerată promițătoare și necesară pentru stadializarea și managementul optim al melanoamelor.

În cadrul studiului doctoral, am realizat pentru prima dată în literatura medicală de specialitate corelații între expresia IHC a markerului CEACAM1 și caracteristicile dermatoscopice ale tumorilor melanocitare pentru o analiză complexă a unității expresiei CEACAM1 în stadializarea melanoamelor.

În cadrul lotului de tumori melanocitare, am studiat corelația dintre expresia markerului CEACAM1 și indicatorii histopatologici și dermatoscopici consacrați pentru recunoașterea comportamentului biologic agresiv al melanomului.

O noutate pentru cercetarea din domeniul cancerului de piele de tip melanom este reprezentată de studierea corelațiilor dintre markeri imunohistochimici de progresie ai melanomului (p53, N-caderină, E-caderină, VEGF, CEACAM1) și aspectele dermatoscopice descrise. Utilitatea acestei comparații este de a descoperi asocieri ce pot ulterior facilita detectarea unor forme agresive de cancer, respectiv a pacienților cu risc de progresie tumorală, înainte de excizarea leziunilor, printr-o simplă investigație noninvazivă de tipul dermatoscopiei. Acest lucru poate grăbi procesul de diagnostic și tratament în cazul grupurilor de pacienți aflați la risc de evoluție rapidă a bolii, respectiv a formelor avansate de boală.

Consider că astfel de corelații dintre dermatoscopie și expresia diverșilor markeri imunohistochimici pot aduce pe viitor informații extrem de utile și vor extinde înțelegerea acestui tip de cancer aflat în continuă expansiune a cunoașterii. Cu siguranță se va ajunge într-un viitor nu foarte îndepărtat ca dermatoscopia și alte mijloace imagistice noninvazive să substituie metodele de diagnostic și stadializare invazive ale melanomului, precum examenul histopatologic și imunohistochimia.

Bibliografie selectivă (din 225 referințe)

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(1):7–34.
2. Thies A, Moll I, Berger J, Wagener C, Brümmer J, Schulze HJ, et al. CEACAM1 expression in cutaneous malignant melanoma predicts the development of metastatic disease. *J Clin Oncol.* 2002;20(10):2530–6.
3. NCT02346955 Clinical trial [Internet]. 2023. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02346955>
4. Cichorek M, Wachulska M, Stasiewicz A, Tymińska A. Skin melanocytes: Biology and development. *Postep Dermatologii i Alergol.* 2013;30(1):30–41.
5. Tachibana M. Sound needs sound melanocytes to be heard. *Pigment Cell Res.* 1999;12(6):344–54.
6. Miyamura Y, Coelho SG, Wolber R, Miller SA, Wakamatsu K, Zmudzka BZ, et al. Regulation of human skin pigmentation and responses to ultraviolet radiation. *Pigment Cell Res.* 2007;20(1):2–13.
7. Tadokoro T, Kobayashi N, Zmudzka BZ, Ito S, Wakamatsu K, Yamaguchi Y, et al. UV-induced DNA damage and melanin content in human skin differing in racial/ethnic origin. *FASEB J.* 2003;17(9):1177–9.
8. Oliveria SA, Satagopan JM, Geller AC, Dusza SW, Weinstock MA, Berwick M, et al. Study of Nevi in Children (SONIC): Baseline Findings and Predictors of Nevus Count. *Am J Epidemiol.* 2008 Oct 8;169(1):41–53.
9. Wiecker TS, Luther H, Buettner P, Bauer J, Garbe C. Moderate sun exposure and nevus counts in parents are associated with development of melanocytic nevi in childhood. *Cancer.* 2003 Feb 1;97(3):628–38.
10. Valiukeviciene S, Miseviciene I, Gollnick H. The prevalence of common acquired melanocytic nevi and the relationship with skin type characteristics and sun exposure among children in Lithuania. *Arch Dermatol.* 2005;141(5):579–86.
11. Gallagher RP, McLean DI. The Epidemiology of Acquired Melanocytic Nevi: A Brief Review. *Dermatol Clin.* 1995 Jul;13(3):595–603.
12. Gallagher RP, Rivers JK, Lee TK, Bajdik CD, McLean DI, Coldman AJ. Broad-spectrum sunscreen use and the development of new nevi in white children. A randomized controlled trial. *J Am Med Assoc.* 2000;283(22):2955–60.
13. Orlow I, Satagopan JM, Berwick M, Enriquez HL, White KAM, Cheung K, et al. Genetic factors associated with naevus count and dermoscopic patterns: Preliminary results from the Study of Nevi in Children (SONIC). *Br J Dermatol.* 2015 Apr 15;172(4):1081–9.
14. Crane LA, Mokrohisky ST, Dellavalle RP, Asdigian NL, Aalborg J, Byers TE, et al. Melanocytic Nevus Development in Colorado Children Born in 1998. *Arch Dermatol.* 2009 Feb 1;145(2):148–56.
15. English DR, Armstrong BK. Melanocytic Nevi in Children. *Am J Epidemiol* [Internet]. 1994 Feb 15;139(4):390–401. Available from: <https://academic.oup.com/aje/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.aje.a117011>
16. Schäfer T, Merkl J, Klemm E, Wichmann HE, Ring J. The epidemiology of nevi and signs

- of skin aging in the adult general population: Results of the KORA-survey 2000. *J Invest Dermatol.* 2006;126(7):1490–6.
17. Viana ACL, Gontijo B, Bittencourt FV. Giant congenital melanocytic nevus. *An Bras Dermatol.* 2013 Dec;88(6):863–78.
 18. Krengel S, Scope A, Dusza SW, Vonthein R, Marghoob AA. New recommendations for the categorization of cutaneous features of congenital melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(3):441–51.
 19. Tannous ZS, Mihm MC, Sober AJ, Duncan LM. Congenital melanocytic nevi: clinical and histopathologic features, risk of melanoma, and clinical management. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52(2):197–203.
 20. Steffen C, Thomas D. The Man Behind the Eponyms. *Am J Dermatopathol.* 2003 Aug;25(4):349–54.
 21. Nedelcu RI, Zurac SA, Brînzea A, Cioplea MD, Turcu G, Popescu R, et al. Morphological features of melanocytic tumors with depigmented halo: Review of the literature and personal results. *Rom J Morphol Embryol.* 2015;56(2):659–63.
 22. Nedelcu R, Dobre A, Brinzea A, Hulea I, Andrei R, Zurac S, et al. Current challenges in deciphering sutton nevi—literature review and personal experience. *J Pers Med.* 2021;11(9).
 23. Murali R, McCarthy SW, Scolyer RA. Blue nevi and related lesions: a review highlighting atypical and newly described variants, distinguishing features and diagnostic pitfalls. *Adv Anat Pathol.* 2009;16(6):365–82.
 24. González-Cámpora R, Galera-Davidson H, Vázquez-Ramirez FJ, Díaz-Cano S. Blue Nevus: Classical Types and New Related Entities: A Differential Diagnostic Review. *Pathol Res Pract.* 1994;190(6):627–35.
 25. Casso EM, Grin-Jorgensen CM, Grant-Kels JM. Spitz nevi. *J Am Acad Dermatol.* 1992;27(6):901–13.
 26. Choi JH, Sung KJ, Koh JK. Pigmented epithelioid cell nevus: A variant of Spitz nevus? *J Am Acad Dermatol.* 1993;28(3):497–8.
 27. De Rosa G, Zalaudek I, Staibano S, Peris K, Rubegni P, Piccolo D, et al. The Spectrum of Spitz Nevi. *Arch Dermatol.* 2005;141(11).
 28. Requena C, Requena L, Kutzner H, Yus ES. Spitz Nevus: A Clinicopathological Study of 349 Cases. *Am J Dermatopathol.* 2009 Apr;31(2):107–16.
 29. Lott JP, Wititsuwannakul J, Lee JJ, Ariyan S, Narayan D, Kluger HH, et al. Clinical characteristics associated with Spitz nevi and Spitzoid malignant melanomas: The Yale University Spitzoid Neoplasm Repository experience, 1991 to 2008. *J Am Acad Dermatol.* 2014 Dec;71(6):1077–82.
 30. Verardino GC, Rochael MC. Spitz nevi in the classic histopathological pattern - Lamb in wolf's clothing. *An Bras Dermatol.* 2015;90(1):91–5.
 31. Weedon D, Little JH. Spindle and epithelioid cell nevi in children and adults. A review of 211 cases of the spitz nevus. *Cancer.* 1977;40(1):217–25.
 32. Ludgate MW, Fullen DR, Lee J, Lowe L, Bradford C, Geiger J, et al. The atypical spitz tumor of uncertain biologic potential. *Cancer.* 2009;115(3):631–41.
 33. Barnhill RL. The spitzoid lesion: The importance of atypical variants and risk assessment

- [1]. *Am J Dermatopathol*. 2006;28(1):75–83.
34. Baigrie D, Tanner L. Dysplastic Nevi [Internet]. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482210/>
 35. Lynch HT, Fritchot BC, Lynch JF. Familial atypical multiple mole-melanoma syndrome. *J Med Genet*. 1978 Oct 1;15(5):352–6.
 36. Reimer RR. Precursor Lesions in Familial Melanoma. *JAMA*. 1978 Feb 20;239(8):744.
 37. Clark WH, Reimer RR, Greene M, Ainsworth AM, Mastrangelo MJ. Origin of familial malignant melanomas from heritable melanocytic lesions. “The B-K mole syndrome”. *Arch Dermatol*. 1978 May;114(5):732–8.
 38. Elder DE, Goldman LI, Goldman SC, Greene MH, Clark WH. Dysplastic nevus syndrome: A phenotypic association of sporadic cutaneous melanoma. *Cancer*. 1980;46(8):1787–94.
 39. Kopf AW, Friedman RJ, Rigel DS. Atypical mole syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 1990;22(1):117–8.
 40. Tucker MA, Halpern A, Holly EA, Hartge P, Elder DE, Sagebiel RW, et al. Clinically recognized dysplastic nevi. A central risk factor for cutaneous melanoma. *JAMA*. 1997 May 14;277(18):1439–44.
 41. Nordlund JJ, Kirkwood J, Forget BM, Scheibner A, Albert DM, Lerner E, et al. Demographic study of clinically atypical (dysplastic) nevi in patients with melanoma and comparison subjects. *Cancer Res*. 1985 Apr;45(4):1855–61.
 42. Lee G, Massa MC, Welykyj S, Choo J, Greaney V. Yield From Total Skin Examination and Effectiveness Of Skin Cancer Awareness Program. *Cancer*. 1991;67(1):202–5.
 43. Elder DE. Dysplastic naevi: an update. *Histopathology*. 2010 Jan;56(1):112–20.
 44. Abbasi NR, Shaw HM, Rigel DS, Friedman RJ, McCarthy WH, Osman I, et al. Early Diagnosis of Cutaneous Melanoma. *JAMA*. 2004 Dec 8;292(22):2771.
 45. Marks R, Dorevitch AP, Mason G. DO ALL MELANOMAS COME FROM “MOLES”? A STUDY OF THE HISTOLOGICAL ASSOCIATION BETWEEN MELANOCYTIC NAEVI AND MELANOMA. *Australas J Dermatol*. 1990 Aug;31(2):77–80.
 46. Crutcher WA, Cohen PJ. Dysplastic nevi and malignant melanoma. *Am Fam Physician*. 1990 Aug;42(2):372–85.
 47. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on Diagnosis and Treatment of Early Melanoma, January 27–29, 1992. *Am J Dermatopathol*. 1993 Feb;15(1):34–43.

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE PE PARCURSUL DOCTORATULUI

ARTICOLE ISI CU FACTOR DE IMPACT PUBLICATE ÎN CALITATE DE AUTOR PRINCIPAL

- **Anastasia Hodorogea**, Andreea Călinescu, Mihaela Antohe, Mihaela Balaban, Roxana Ioana Nedelcu, Gabriela Turcu, Daniela Adriana Ion, Ioana Anca Badarau, Catalin Mihai Popescu, Raluca Popescu, Cristiana Popp, Mirela Cioplea, Luciana Nichita, Ionela Hulea and Alice Brinzea. Epithelial-Mesenchymal Transition in Skin Cancers: A Review. *Analytical Cellular Pathology* Volume 2019, Article ID 3851576, 11 pages, **IF 1.788**; (*Capitolul 2, pagina 20*)

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31934531/>

ARTICOLE BDI PUBLICATE ÎN CALITATE DE AUTOR PRINCIPAL

- **Anastasia Coman**, Mihaela Antohe, Alice Brinzea, Roxana Ioana Nedelcu, Andreea Moroianu, Gabriela Turcu, Mihaela Balaban, Mihaela Cristina David Niculescu, Elena Balasescu, Ionela Hulea, Sabina Zurac, Mirela Cioplea, Cristiana Popp, Luciana Nichita, Raluca Popescu, Catalin Mihai Popescu, Daniela Adriana Ion. Dermoscopy and histopathology correlations in melanoma-can dermoscopic criteria predict the severity of melanoma? *Romanian Journal of Clinical Research*, 4(1) (*Capitolul 2, pagina 19*)

<https://rjronline.com/index.php/rjcr/article/view/68>

- Antohe M, **Coman A**, Turcu G, Nedelcu RI, Brinzea A, Balaban M, Moroianu A, Manea L, Hulea I, Balasescu E, Zurac SA, Cioplea M, Popp C, Nichita L, Ion DA. The prognostic significance of the clinical and histological parameters in primary cutaneous melanoma patients. *Med Pharm Rep.* 2022 Jul;95(3):229-235. doi: 10.15386/mpr-2142. Epub 2022 Jul 26. PMID: 36060503; PMCID: PMC9387583; (*Capitolul 7, pagina 110*)

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36060503/>

ARTICOLE ISI CU FACTOR DE IMPACT PUBLICATE ÎN CALITATE DE CO-AUTOR

- Andreea Călinescu, Gabriela Turcu, Roxana I. Nedelcu, Alice Brînzea, **Anastasia Hodorogea**, Mihaela Antohe, Carmen Diaconu, Coralia Bleotu, Nicolae D. Pirici, Lucia B. Jilăveanu, Daniela A. Ion, Ioana A. Badărău. On the dual role of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule1 (CEACAM1) in human malignancies. Journal of Immunology Research, Volume 2018, Article ID 7169081, 8 pages. **IF 3.404**;
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6204181/>
- Antohe M, RI Nedelcu, L Nichita, C Popp, M Cioplea, A Branzea, **A Hodorogea**, A Calinescu, DA Ion, C Diaconu, C Bleotu, ND Pirici, SA Zurac, G Turcu. Tumor infiltrating lymphocytes - the regulator of melanoma evolution. Oncology Letters, Volume 17, 2019, 4155:4161; **IF 1.871**;
<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2019.9940>
- A Brinzea, RI Nedelcu, G Turcu, M Antohe, **A Hodorogea**, A Calinescu, DA Ion, D Pirici, R Popescu, CM Popescu, C Popp, M Cioplea, SA Zurac. Matrixmetalloproteinases expression in lentigo maligna/lentigo maligna melanoma - a review of the literature and personal experience. Rom J Morphol Embryol. 2019;60(4):1091-1095. **IF 1.411**;
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32239083/>
- Nedelcu R, Dobre A, Brinzea A, Hulea I, Andrei R, Zurac S, Balaban M, Antohe M, Manea L, Calinescu A, **Coman A**, Pantelimon F, Dobritoiu A, Popescu C, Popescu R, Balasescu E, Ion D, Turcu G. Current Challenges in Deciphering Sutton Nevi—Literature Review and Personal Experience. Journal of Personalized Medicine. 2021; 11(9):904. **IF 3.40**;
<https://doi.org/10.3390/jpm11090904>