



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Aspecte clinico-patologice integrate în dinamica
carcinomului bazocelular**

Conducător de doctorat:

Prof. Univ. Dr. Mariana Costache

Student Doctorand:

Naie Alexandru

2023

Cuprins

CUPRINS.....	i
Lista cu lucrările științifice publicate.....	iv
Lista cu abrevieri și simboluri.....	v
INTRODUCERE.....	1
I. PARTEA GENERALĂ.....	6
1. NOȚIUNI DE EPIDEMIOLOGIE ȘI ETIOLOGIE ALE CARCINOAMELOR BAZOCELULARE.....	7
1.1. Epidemiologia carcinoamelor bazocelulare.....	7
1.2. Etiologia carcinoamelor bazocelulare.....	8
2. DIAGNOSTICUL CARCINOAMELOR BAZOCELULARE.....	12
2.1. Localizarea carcinoamelor bazocelulare.....	12
2.2. Aspecte clinice în carcinoamele bazocelulare.....	12
2.3. Aspecte dermatoscopice în carcinomul bazocelular.....	14
2.4. Forme histopatologice de carcinom bazocelular.....	14
2.5. Diagnostic diferențial al carcinoamelor bazocelulare.....	24
2.6. Diagnostic imunohistochimic al carcinoamelor bazocelulare.....	26
3. TRATAMENT ȘI FACTORI DE PROGNOSTIC ÎN CARCINOAMELE BAZOCELULARE.....	30
3.1. Tratamentul carcinomului bazocelular.....	30
3.2. Factori de prognostic în carcinomul bazocelular.....	33
4. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE ALE CERCETĂRII.....	38
5. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII.....	39
5.1. Selecția cazurilor.....	39
5.2. Studiul morfologic al carcinoamelor bazocelulare.....	40
5.3. Studiul imunohistochimic al carcinoamelor bazocelulare.....	41

5.4. Analiza statistică	43
6. STUDIUL CLINIC ȘI EPIDEMIOLOGIC AL CARCINOAMELOR BAZOCELULARE.....	44
6.1. Introducere	44
6.2. Materiale și metode.....	44
6.3. Rezultate	45
6.3.1. Distribuția pacienților în funcție de datele demografice	45
6.3.2. Topografia leziunilor	47
6.4. Discuții.....	50
7. STUDIUL MORFOLOGIC AL CARCINOAMELOR BAZOCELULARE	53
7.1. Introducere	53
7.2. Materiale și metode.....	54
7.3. Rezultate	54
7.3.1. Studiul macroscopic al carcinoamelor bazocelulare	54
7.3.2. Studiul microscopic al carcinoamelor bazocelulare	57
7.4. Discuții.....	81
8. STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL CARCINOAMELOR BAZOCELULARE.....	87
8.1. Introducere	87
8.2. Materiale și metode.....	87
8.3. Rezultate	89
8.4. Discuții.....	109
9. ROLUL VASCULARIZAȚIEI ÎN CARCINOMUL BAZOCELULAR.....	114
9.1. Introducere	114
9.2. Materiale și metode.....	114
9.3. Rezultate	115
9.4. Discuții.....	123
10. ROLUL RADIOTERAPIEI ÎN CARCINOAMELE BAZOCELULARE	127

10.1.	Introducere	127
10.2.	Materiale și metode	130
10.3.	Rezultate.....	130
10.4.	Discuții	132
	CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE.....	135
	Bibliografie.....	140
	Anexe.....	155

I. INTRODUCERE

Carcinomul bazocelular (CBC) reprezintă cea mai frecventă tumoră malignă a pielii la nivel mondial. Este uzual întâlnit în populația caucaziană, așa încât incidența acestei afecțiuni este invers proporțională cu latitudinea zonei în care pacientul locuiește, fiind în strânsă legătură cu statusul pigmentar cutanat. Astfel, s-au raportat rate similare de incidență în Europa, Canada și Asia, iar Australia are cea mai mare incidență la nivel mondial. Prevalența CBC este în creștere, pe de o parte datorită metodelor îmbunătățite de diagnostic, iar pe de altă parte datorită îmbătrânirii populației, a tendinței de creștere numerică a acesteia și a expunerii la radiațiile ultraviolete (UV). Incidența CBC crește semnificativ după vârsta de 40 de ani, dar în ultimii ani s-a înregistrat o incidență crescută în rândul populației mai tinere, în special a femeilor, ca urmare a unei expuneri mai mari la radiațiile UV solare sau din surse artificiale. Probabilitatea dezvoltării unui CBC este, prin urmare, rezultatul unei interacțiuni complexe între factori de mediu, fenotipici și genetici [1].

Factorii de risc sunt reprezentați de radiațiile UV, pe locul întâi ca importanță și alți factori precum arsurile, expunerea la arsenic, rănilor cronice, infecția cu virusul imunodeficienței umane (HIV) respectiv sindromul imunodeficienței umane dobândite (SIDA), transplantul de organe, radiațiile ionizante și alte afecțiuni imunosupresoare. Unele boli genetice, rare, pot fi responsabile pentru CBC în timpul copilăriei și adolescenței, cum ar fi sindromul Gorlin, albinismul și xeroderma pigmentosum [2-3].

În clasificarea efectuată de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) sunt recunoscute mai multe subtipuri de CBC cu morfologie relevantă pentru prognostic. Astfel, sunt descrise CBC cu risc scăzut (nodulare, superficiale, pigmentare, fibroepiteliale, cu diferențiere anexială/ infundibulo-chistice) și CBC cu risc ridicat (micronodulare, infiltrante, sclerozante/morfeice, bazo-scuamoase, sarcomatoid). Unele subtipuri prezintă variante histopatologice (keratozic, nodulo-chistic, adenoid) și citologice particulare (cu celule clare, monstruoase, cu celule în inel cu pecete) [4].

Din punct de vedere imunohistochimic (IHC), CBC este pozitiv pentru Ber-EP4/Ep-CAM, CD 10, p 63 și BCL 2; este negativ pentru EMA (cu excepția zonelor de tranziție din zonele bazo-scuamoase și sebacee/ductale din CBC cu diferențiere anexială).

A fost raportată o expresie variabilă pentru CK 5, CK 7, CK 8, CK 15, CK 18 și CK 19. Stroma CBC de obicei este negativă sau neuniform pozitivă pentru CD 10 și CD 34 [5].

Principalele diagnostice diferențiale sunt reprezentate de: tricoblastom, tricoepiteliom și carcinomul scuamos bazaloid pentru CBC nodular, Keratoza actinică pentru CBC superficial, tricoepiteliomul desmoplastic pentru CBC sclerozant/morfeiform, carcinomul scuamos pentru CBC bazo-scuamos, leziuni melanocitare pentru CBC pigmentar și mai multe neoplasme de anexe pentru CBC cu diferențiere anexială. Imitatorii mai puțin întâlniți în practica medicală sunt: carcinomul cu celule Merkel, histiocitomul fibros benign și carcinomul anexial microchistic [6].

Terapia standard a CBC este intervenția chirurgicală. În regiunea capului și gâtului, intervenția chirurgicală Mohs sau chirurgia controlată micrografic asigură rate mai mici de recidivă comparativ cu excizia largă. În stadiile I și II de evoluție sunt utilizate o serie de alte tratamente, dar cu rate mai mici de vindecare și recidive frecvente. Radioterapia este eficientă pentru pacienții care nu se califică pentru intervenție chirurgicală, dar cu o rată de remisie mai mică față de intervenția chirurgicală. Efectele adverse includ reacții cutanate, cum ar fi atrofie, modificări pigmentare, căderea părului și telangiectazii. Impactul negativ asupra calității vieții pare, însă, să fie temporar [7-9].

CBC avansate sunt definite ca tumori de stadiile III și IV. Adesea, aceste tumori se dezvoltă pe parcursul mai multor ani, dar sunt neglijate de pacienți și aparținători. Există o suprapunere a CBC cu risc ridicat și CBC avansat. CBC cu risc ridicat este definit ca o tumoră cu evoluție îndelungată, localizată la mijlocul feței sau pe urechi, cu diametrul mai mare de 2 cm, având un subtip histopatologic agresiv, cu infiltrare perivasculară sau perineurală, iar pacientul are antecedente de expunere la radiații sau eșec al tratamentului anterior [10-11].

Scopul prezentei lucrări este de a oferi o imagine cuprinzătoare a cunoștințelor existente privind CBC, cu accent pe caracteristicile clinice, histopatologice, a importanței micromediului tumoral și în special a vascularizației asociate tumorii, asupra capacității de invazie tumorală și a impactului radioterapiei în evoluția bolii.

Studiul este unul de tip observațional, retrospectiv, ce vizează cazurile de CBC diagnosticate în cadrul laboratorului de Anatomie Patologică al Spitalul Universitar de Urgență din București, unele dintre ele supuse tratamentului radioterapic la Institutul de Oncologie Prof. Dr. Alexandru Trestioreanu din București, între anii 2013 și 2021, de-a

lungul unei perioade de 8 ani. Lotul a totalizat un număr de 754 de cazuri. Lucrarea este structurată în două părți, repartizată în 10 capitole. Pentru realizarea acestui studiu și pentru compararea rezultatelor obținute, am consultat un număr de 168 de referințe bibliografice. De asemenea, studiul doctoral include o iconografie originală folosind imagini de macroscopie și microscopie optică, numeroase grafice și tabele.

În cadrul prezentei cercetări doctorale au fost atinse scopul și obiectivele propuse, ce au vizat caracteristicile clinice, microscopice, imunohistochimice, densitatea microvasculară și particularitățile terapeutice ale CBC.

Analiza s-a desfășurat pe o cohortă care a cuprins 754 de cazuri de CBC. Vârsta pacienților a variat între 19 și 93 de ani, media fiind de 67,5 ani. Raportul dintre genuri în lotul studiat a fost în favoarea genului feminin, la acesta din urmă, vârsta la diagnostic fiind mai mică.

În ceea ce privește topografia tumorilor, marea majoritate a acestora a fost localizată pe zonele fotoexpuse, cele mai multe fiind situate la nivelul capului și gâtului, în special la nivelul feței (în ordinea frecvenței: nas, obraji, frunte și zona periorbitală), urmate de localizarea toracală.

Din punct de vedere macroscopic, majoritatea tumorilor au avut un aspect nodular, fie cu telangiectazii în suprafață, fie ulcerate, pigmentare, traumatizate, suprainfectate, cu calcificări, cu aspect pseudocicatriceal sau inflamator. Din punct de vedere microscopic, subtipurile histopatologice identificate, în ordinea frecvenței, sunt următoarele: tipul nodular – predominant, pigmentar, superficial, bazo-scuamos, infiltrativ, infundibulo-chistic, morfeiform și fibroepitelial.

Localizarea și subtipul histopatologic s-au asociat semnificativ statistic, CBC fibroepitelial, regăsindu-se exclusiv la nivelul toracelui; la nivelul membrelor inferioare a predominat tipul superficial, la nivelul capului și gâtului, toracelui, membrelor superioare și respectiv abdomenului, cele mai multe tumori au aparținut subtipului nodular.

Cel mai frecvent s-au raportat tumori unice însă au existat și cazuri cu tumori multiple, cele mai multe situate la nivelul capului și gâtului. În 4,4% din cazuri tumorile au fost secundare (recidive), localizate la nivelul capului și gâtului. Subtipul histopatologic s-a asociat cu caracterul secundar al tumorii, cele mai multe recidive fiind de tip infiltrativ și nodular, urmate de cele de tip bazo-scuamos.

Din punct de vedere imunohistochimic, citokeratinele AE1/AE3 și 34BetaE12 au fost pozitive în toate cazurile testate, difuz și intens, în concordanță cu natura epitelială a proliferării tumorale. BerEp4 a fost de asemenea pozitiv în toate cazurile testate iar în recidivele tumorale fiind mai frecvent întâlnită o expresie slab pozitivă, spre deosebire de tumorile primare, la care a predominat expresia intens pozitivă. Expresia slab pozitivă s-a asociat totodată cu formele infiltrativă, bazo-scuamoasă și morfeiformă. Expresia EMA s-a asociat cu subtipul histopatologic bazo-scuamos. Cele mai multe cazuri P 63 pozitive s-au înregistrat la genul feminin. Expresia crescută P 53 s-a asociat cu subtipurile histopatologice morfeiform, infiltrativ și bazo-scuamos și, de asemenea, cu recidivele tumorale și tumorile traumatizate. Expresia scăzută BCL 2 s-a asociat cu subtipurile histologice superficial și nodular. Pozitivitatea CD 10 în celulele tumorale s-a asociat cu localizarea la nivelul capului și gâtului, iar cea de la nivelul celulelor stromale cu formele histopatologice infiltrativă și morfeiformă. Valori crescute ale EGFR s-au asociat cu o vârstă mai tânără a pacientului și cu caracterul secundar al tumorii. Indicele de proliferare Ki 67 a avut valori ale medianei mai mari la nivelul capului și gâtului, în comparație cu tumorile localizate la nivelul toracelui. Dintre subtipurile histopatologice, cel bazo-scuamos a înregistrat cele mai mari valori ale Ki 67 și, de asemenea, recidivele tumorale, în comparație cu tumorile primare.

Un subiect relativ nou referitor la structura tumorilor și a factorilor determinanți ai patogenezei îl reprezintă micromediul tumoral, iar din această categorie am ales să studiem vascularizația intratumorală. Prin urmare, am constatat că densitatea microvasculară peritumorală este superioară celei intratumorale, iar intratumoral predomină densitatea microvasculară scăzută. La nivelul toracelui și membrilor superioare tumorile s-au caracterizat exclusiv prin densitate vasculară scăzută, aceasta asociindu-se și cu tipurile histopatologice superficial, infundibulo-chistic, fibroepitelial și pigmentar. Recidivele, pe de altă parte, au fost caracterizate prin densitate vasculară crescută.

În strânsă legătură cu vascularizația tumorală este expresia VEGF, care este prezentă nu doar în celulele endoteliale din structura pereților vasculari, dar și în celulele tumorale, predominant pe frontul tumoral invaziv. VEGF în celulele tumorale s-a corelat cu densitatea microvasculară, iar expresia crescută s-a asociat cu subtipurile histopatologice superficial și pigmentar.

Radioterapia reprezintă o opțiune terapeutică în CBC, fie ca terapie adjuvantă (când marginile de rezecție sunt pozitive, în condițiile invaziei perineurale, a recidivelor multiple și invaziei osoase), fie ca terapie unică (când o procedură chirurgicală poate duce la un defect cosmetic semnificativ sau în cazul CBC nerezecabile). Au fost evaluate 33 de cazuri de CBC radiotratate, tipul histopatologic dominant fiind cel nodular. După radioterapie rata de recidivă a fost de 39%. Mediana duratei până la recidivă a fost de 39,5 luni. 85% dintre cazurile recidivate au fost situate la nivelul capului și gâtului – în mod uzual periocular, având frecvent subtipul histopatologic nodular și ulcerat. Doza totală de radiație a fost variabilă pentru CBC situate pe cap și gât (de la 10 la 48 Gy), dar întotdeauna peste 30 Gy pentru CBC situate pe trunchi.

Cercetarea doctorală pe care o voi prezenta în cele ce urmează s-a confruntat cu o serie de limitări. Unele au fost de natură materială, neavând posibilitatea de a efectua teste de biologie moleculară, care să întregescă tabloul tumorilor evaluate. De asemenea, testarea imunohistochimică s-a efectuat pe un număr limitat de cazuri. Informațiile privind istoricul și evoluția pacienților au fost parțial limitate. Natura retrospectivă a studiului a determinat, inevitabil, imposibilitatea de a obține o serie de informații iar caracterul observațional nu a permis evidențierea unor relații cauzale între variabilele analizate, ci doar tendințe de asociere.

Rezultatele obținute, în special în ceea ce privește microvascularizația tumorală, expresia VEGF și EGFR impun continuarea cercetării, ce ar putea avea drept finalitate descoperirea unei alternative de tratament, terapia cu anticorpi monoclonali putând fi o soluție în cazurile de CBC avansate. Studiile asupra acestui subiect sunt, însă, abia la început și în număr redus, fiind necesare investigații suplimentare, pe cohorte mai mari și impunându-se studii clinice care să completeze datele obținute.

II. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE ALE CERCETĂRII

CBC reprezintă cel mai frecvent tip de tumoră malignă, incidența acestuia fiind în creștere. CBC are o mortalitate scăzută, dar poate provoca morbiditate semnificativă în principal datorită caracterului distructiv local. Patogeneza este legată de interacțiunea dintre mediu și caracteristicile derivate de la pacient. Există mai multe modalități terapeutice iar selecția adecvată a acestora necesită cunoașterea complicațiilor, a rezultatelor cosmetice și a ratele de recurență [12].

În acest context, prezenta cercetare doctorală are drept scop analiza aprofundată a CBC prin studiul caracterelor clinice, morfopatologice și imunohistochimice, în vederea unei mai bune înțelegeri a dinamicii comportamentului biologic tumoral al acestor variabile. De asemenea, lucrarea de față își propune să evidențieze rolul vascularizației tumorale în dinamica bolii și, din punct de vedere terapeutic, utilitatea radioterapiei.

Obiectivele studiului cuprind:

1. *Analiza caracteristicilor generale, demografice și clinice ale pacienților diagnosticați cu carcinoame bazocelulare* – în care vor fi detaliate caracteristicile pacienților precum genul, vârsta, localizarea tumorii, caracterul primar/recidivant al tumorii, tumori unice vs. multiple. De asemenea va fi evaluată existența asocierilor și corelațiilor între aceste variabile.
2. *Analiza caracterelor morfologice* – în care vor fi raportate cele mai frecvente aspecte macroscopice tumorale și vor fi detaliate aspectele microscopice (subtip histopatologic, prezența necrozei tumorale, a ulcerăției, a suprainfecției, a calcificărilor, a semnelor de traumă), cu iconografie reprezentativă. Totodată, se va testa existența asocierilor și corelațiilor cu alte variabile clinico-patologice.
3. *Studierea expresiei imunohistochimice* a markerilor de diagnostic pozitiv (BerEP4, 34BetaE12, AE1/AE3), EMA, CD 10, CD 34, VEGF, EGFR, P 63, P 53, Bcl 2 precum și a indicelui de proliferare nucleară Ki 67. De asemenea vor fi evaluate corelațiile imunoexpresiei acestor markeri cu alte variabile clinico-patologice și morfologice tumorale.
4. Studiul neovascularizației tumorale
5. Rolul radioterapiei

III. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII

1.1. Selecția cazurilor

Prezentul studiu doctoral are la bază analiza retrospectivă a cazurilor de CBC diagnosticate și respectiv tratate în două mari centre universitare din București: Spitalul Universitar de Urgență din București (SUUB) și Institutul Oncologic din București (IOB), de-a lungul unei perioade de 8 de ani (2013 - 2021). Pacienții au beneficiat de excizii chirurgicale în secția de chirurgie plastică a SUUB iar piesele de excizie au fost prelucrate în vederea diagnosticului histopatologic în departamentul de Anatomie Patologică al aceleiași instituții; ulterior, unii dintre pacienți au fost tratați oncologic prin radioterapie la IOB. Studiul retrospectiv a fost realizat accesând registrele histopatologice din cadrul serviciului de Anatomie Patologică și al bazei de date informatizate din SUUB. Studiul s-a desfășurat cu acordul Comisiei de Etică, fiind în conformitate cu standardele etice internaționale și având consimțământul informat al pacienților pentru utilizarea țesuturilor în scop de diagnostic și de cercetare.

Din fișele de însoțire ale pieselor excizate chirurgical, registrele histopatologice și bazele de date ale spitalelor au fost extrase principalele repere clinice (vârstă, gen, localizarea anatomică a tumorilor, data diagnosticului), aspectele macroscopice ale tumorilor, diagnosticul histopatologic și, în unele cazuri, cel imunohistochimic. Lotul a totalizat un număr de 754 de cazuri.

Pentru subloturi de cazuri s-au efectuat teste IHC care să pună în evidență particularități tumorale.

Criterii de includere:

- Cazurile înregistrate în cadrul departamentului de Anatomie Patologică al SUUB.
- Cazurile diagnosticate histopatologic drept CBC.

Criterii de excludere:

- Cazurile înregistrate în afara intervalului de timp 2013-2021.
- Cazurile la care informațiile clinico-patologice esențiale nu au fost accesibile.
- Cazurile în care diagnosticul histopatologic a fost infirmat imunohistochimic.

1.2. Studiul morfologic al carcinoamelor bazocelulare

Studiul morfologic al tumorilor a avut drept scop diagnosticul pozitiv de CBC și ulterior analiza și consemnarea particularităților tumorale cu importanță prognostică.

Piese de rezecție chirurgicală au ajuns în laboratorul de Anatomie Patologică împreună cu Fișa de însoțire a materialului biopsic, care conține datele de identificare ale pacientului și acordul informat al acestuia privind prelucrarea histopatologică a produselor prelevate, tipul procedurii chirurgicale, diagnosticul clinic, data recoltării, precum și semnatura și parafa medicului care a solicitat examinarea histopatologică. Intrat în laborator, cazul primește un număr unic de înregistrare. Piese de excizie au fost introduse în recipiente cu formol 10%, în vederea fixării, pentru aproximativ 12 ore. Prima etapă este reprezentată de *examenul macroscopic*, în cadrul căruia se determină dimensiunile fragmentului cutanat, ale tumorii, forma și culoarea acesteia, distanța față de marginile de rezecție, prezența ariilor de ulcerare etc. În urma acestei examinări, piesa este secționată și introdusă în casete, urmând a fi procesată în vederea examinării histopatologice. *Procesarea* are loc automat, cu ajutorul procesatorului de țesuturi, având drept scop oprirea proceselor vitale, conservarea și pregătirea țesutului pentru a putea fi secționat cât mai fin. Pașii procesării sunt următorii:

- deshidratarea – folosind alcool etilic, în diferite diluții crescătoare
- clarificarea – cu ajutorul toluenului
- impregnarea cu parafină.

După procesare are loc *includerea* fragmentelor tisulare în blocuri de parafină, cu ajutorul aparatului de inclus, care topește parafina la o temperatură de 58-60° C ce, ulterior, se solidifică prin răcire, cu obținerea de mulaje de formă dreptunghiulară ce pot fi fixate în microtom pentru secționare. Blocurile de parafină astfel obținute vor fi fasonate și numerotate cu numerele de înregistrare ale cazului. *Secționarea*, are loc cu ajutorul aparatului numit microtom, obținându-se secțiuni cu o grosime de aproximativ 4 μm, ce se întind pe lama de sticlă. Acestea sunt transparente, astfel impunându-se etapa următoare: colorarea. *Colorația* uzuală folosită este Hematoxilin-Eozină (H&E) care, de asemenea, se desfășoară automat, folosindu-se un aparat standardizat, special conceput. Colorarea se desfășoară urmând mai mulți pași succesivi: deparafinare (cu toluen / xilen), rehidratare în trei băi succesive de alcool etilic, colorare cu Hematoxilină Mayer (2-5 minute), spălare,

diferențiere în alcool-acid clorhidric, spălare, contrastare în soluție saturată de carbonat de litiu, spălare, colorare cu Eozină (3 minute), spălare, deshidratare în trei băi succesive de alcool etilic, clarificare.

Ultima etapă în obținerea lamelor histopatologice o reprezintă *montarea*, care presupune aplicarea unei lamele peste lamă, cu ajutorul mediului de montare (*Entellan sau alte medii de montare*). Rezultatul final presupune nucleii colorați în albastru-violet (bazofili) și citoplasmă cât și alte structuri conjunctive colorate în roz (eozinofile).

Analiza microscopică s-a realizat cu ajutorul microscopului optic (Leica DM 750) și fotografiile cu ajutorul camerelor Leica ICC50HD și a softului Leica Application Suite X versiunea 3.0.2. Aceasta a avut drept scop diagnosticul pozitiv al CBC și observarea particularităților, precum tipul histopatologic, prezența ulcerăției, a suprainfecției, calcificărilor, vascularizației tumorale etc.

1.3. Studiul imunohistochimic al carcinoamelor bazocelulare

Un număr limitat de cazuri au fost testate IHC (Tabel V.1), în vederea evaluării anumitor particularități tumorale. IHC reprezintă o metodă diagnostică ce combină tehnicile histologice cu cele imunologice și biochimice cu scopul identificării componentelor celulare și tisulare cât mai specific posibil printr-o reacție antigen-anticorp. În urma interacțiunii antigen-anticorp, situsul de legare al anticorpului este pus în evidență printr-o reacție indirectă de colorare. Tehnicile IHC au crescut siguranța diagnosticului final anatomopatologic, făcând posibil diagnosticul diferențial și în unele cazuri evaluarea factorilor de prognostic. În funcție de tipul anticorpului și specificațiile tehnice, protocolul poate varia. Secțiunile tisulare pentru testarea IHC au avut grosimi de 3μm fiind aplicate pe lame tratate cu un agent adeziv (polilizină). Cromogenul folosit a fost diaminobenzidina – DAB (producător BIOCARE). Etapele de lucru esențiale au fost, pe scurt, următoarele:

- deparafinarea în toluen și hidratarea secțiunii tisulare în băi succesive de alcool etilic, urmate de spălare
- pretratamentul lamelor în funcție de specificațiile anticorpilor primari
- inhibarea peroxidazei endogene
- blocarea antigenicității nespecifice
- digestia proteolitică și demascarea antigenelor țintă

- colorarea IHC propriu-zisă, care presupune:
 - incubarea cu anticorpul primar
 - aplicarea polimerului enzimatic marcat
 - aplicarea substratului cromogen (DAB)
 - contracolorare cu Hematoxină Mayer.

Rezultatul final al reacției IHC poate fi evaluat cu ajutorul microscopului optic uzual, antigenele investigate fiind colorate în brun datorită cromogenului DAB (marcaj nuclear, citoplasmatic sau membranar, în funcție de antigenul de interes), pe un fond albastru conferit de hematoxilina Mayer.

Tabel V.1. Anticorpii folosiți în studiu

Anticorp	Clona	Diluție	Producător
AE1/AE3	AE1/AE3	Ready-to-use	Biocare
EMA	Mc-5	Ready-to-use	Biocare
BerEp4	Ber-Ep4	Ready-to-use	Biocare
34BetaE12	34BetaE12	Ready-to-use	Biocare
CD34	QBEnd/10	Ready-to-use	Zeta
CD10	56C6	Ready-to-use	Biocare
VEGF	EP1176Y	Ready-to-use	Biocare
EGFR	H11	Ready-to-use	Biocare
P63	4A4	Ready-to-use	Zeta
P53	DO-7	Ready-to-use	Biocare
BCL2	100/D5	Ready-to-use	Biocare
Ki67	MIB-1	Ready-to-use	Zeta

1.4. Analiza statistică

Variabilele eșantionului studiat au fost colectate într-o bază de date în programul Microsoft Excel 2016.

Analiza statistică s-a efectuat în programul IBM SPSS Statistics 20. S-au efectuat statistici descriptive și teste de semnificație. Pentru analiză descriptivă s-au calculat procentele, frecvențele, mediile, eroarea standard a mediilor, deviația standard, medianele și IQR. Pentru verificarea asocierilor intervariabile s-a utilizat testul Chi-Square și corecțiile corespunzătoare atunci când criteriile nu au fost îndeplinite (Likelihood ratio, Fisher test) alături de parametrii Phi și Cramer V pentru stabilirea mărimii efectului; testul t-independent cu raportarea gradelor de libertate, diferența mediilor, testul Levene's pentru testarea omogenității datelor. Pentru situația în care condițiile testelor de normalitate nu sunt îndeplinite s-a utilizat testul non-parametric Mann-Whitney U și Kruskal-Wallis. Intervalul de încredere a fost setat la 95%. Rezultatele au fost prezentate numeric și grafic.

IV. PARTEA SPECIALĂ - SINTEZA CAPITOLELOR

Capitolul 6 al tezei de doctorat se axează pe studiul clinic și epidemiologic al CBC. Studiul de față a cuprins un număr total de 754 de pacienți diagnosticați cu CBC, pe parcursul a 8 ani (2013 - 2021) la SUUB. Caracteristicile clinice și demografice ale acestora au fost introduse într-o bază de date de tip Microsoft Excel. Variabilele categorice (gen, localizare tumorală etc.) au fost împărțite pe categorii iar pentru cele numerice (vârsta) s-au determinat intervale și s-au calculat medii, mediane, deviații standard, IQR (interquartile range) etc. Cu ajutorul programului IBM SPSS Statistics 20 s-au efectuat teste statistice suplimentare pentru verificarea asocierilor intervariabile și pentru testarea corelațiilor. În final, rezultatele au fost prezentate numeric, inclusiv sub formă de tabele și grafice.

În ceea ce privește localizarea tumorală, majoritatea leziunilor au fost situate la nivelul capului și gâtului, fața fiind zona cel mai frecvent afectată. În 35% din cazuri, leziunile au fost situate pe nas, în timp ce în 24% din cazuri, leziunea a fost pe obraji, frunte 9% și periorbital 8%. Peste 90% din totalul CBC au fost localizate pe zonele pielii expuse la soare, dezvăluind o asociere semnificativă statistic ($p < 0,05$). În ceea ce privește zonele nonfotoexpuse, un procent mare de cazuri au fost găsite pe torace (11,9%); iar în locurile corpului expuse intermitent la lumina soarelui: membrele superioare (1,7%) și membrele inferioare (2,1%) (Figura 6.4).

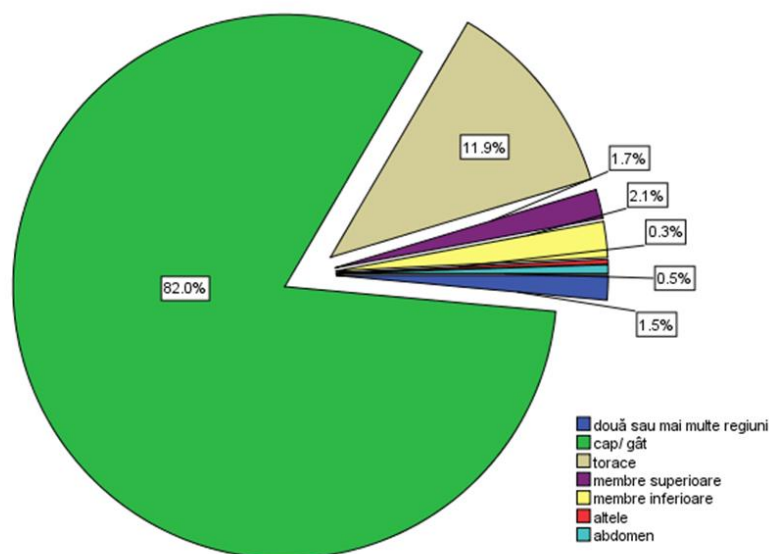


Figura 6.4 Localizarea carcinoamelor bazocelulare

S-a identificat o diferență semnificativă statistic între mediile vârstei în grupul în care s-a realizat excizie cu limite de siguranță și în grupul în care nu au existat margini de siguranță oncologică, $p = 0,47$ ($df = 752$, $t = 1.994$, Levene's test = 0.941), la vârste mai tinere practicându-se mai frecvent excizie cu limită de siguranță (Figura 6.8).

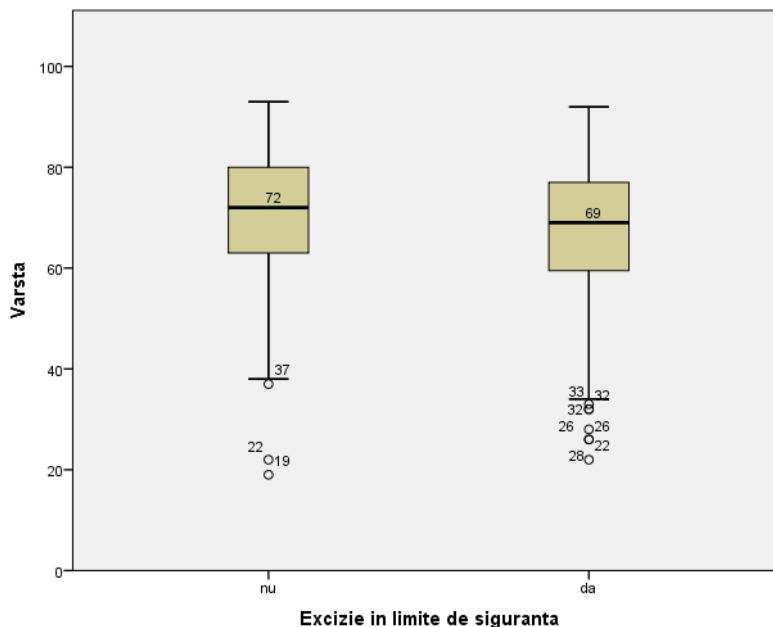


Figura 6.8. Testul Kruskal-Wallis în funcție de excizia în limite de siguranță oncologică și vârsta pacienților

Capitolul 7 al tezei redă informații cu privire la studiul morfologic al CBC. Studiul de față a cuprins un număr total de 754 de pacienți diagnosticați cu CBC. În prima parte, a fost pus în evidență aspectul macroscopic al tumorilor, iar în a doua parte a fost evaluat aspectul microscopic al acestora pe baza lamelor colorate uzual, cu H&E, utilizând microscopul optic. În primă instanță a fost confirmat diagnosticul pozitiv de CBC și, ulterior, au fost inventariate particularitățile tumorale precum tipul histologic, prezența necrozei, a ulcerăției, etc. De asemenea, au fost efectuate fotografiile cu ajutorul camerei atașate microscopului, care surprind imagini reprezentative ale aspectelor descrise și care completează datele numerice și grafice. Variabilele menționate au fost contabilizate într-o bază de date de tip Microsoft Excel. Cu ajutorul programului IBM SPSS Statistics 20 s-au efectuat teste statistice pentru verificarea frecvențelor și asocierilor intervariabile.

Din punct de vedere al aspectului clinic, peste 60% dintre tumori au avut un aspect nodular, unele acoperite de un epiteliu integru, cu telangiectazii în suprafață, altele

ulcerate, traumatizate, suprainfectate sau prezentând calcificări. Circa 10% dintre tumori au fost pigmentare, pretându-se la diagnostic diferențial cu tumorile melanocitare. Într-o proporție mai mică s-au identificat forme superficiale, mimând afecțiuni inflamatorii sau forme imprecis delimitate, de culoare albicioasă, cu aspect pseudocicatriceal.

Localizarea și subtipul histopatologic s-au asociat semnificativ statistic, $p < 0.01$, $df = 48$, Cramer's $V = 0.208$, putere de asociere slabă. Astfel, la nivelul capului și gâtului, cele mai multe tumori au aparținut subtipului nodular, urmat de cel pigmentar, bazo-scuamos și infundibulo-chistic. La nivelul toracelui, de asemenea, cel mai întâlnit tip histologic a fost cel nodular, urmat de cel superficial și, apoi, de către cel pigmentar. Subtipul nodular a predominat și la nivelul membrelor superioare, urmat la egalitate, de cel superficial, bazo-scuamos, infiltrativ și pigmentar. La nivelul membrelor inferioare a predominat tipul superficial, urmat de cel nodular și pigmentar. La nivelul abdomenului, tipurile nodular și superficial au avut un număr egal de reprezentanți. În majoritatea subtipurilor histologice, localizarea la nivelul capului și gâtului a predominat, cu excepția formei fibro-epiteliale, regăsite exclusiv la nivelul toracelui (Tabel VII.1).

Tabel VII.1. Distribuția cazurilor în funcție de localizare și subtipul histopatologic

Localizare generală	Forma HP								
	N	S	B-S	I-C	F-E	I	P	M	C
Două sau mai multe regiuni	5	1	0	0	0	1	3	0	1
	45,5%	9,1%	0,0%	0,0%	0,0%	9,1%	27,3%	0,0%	9,1%
Cap/ gât	440	19	39	21	0	32	55	11	1
	71,2%	3,1%	6,3%	3,4%	0,0%	5,2%	8,9%	1,8%	0,2%
Torace	45	19	5	0	5	0	16	0	0
	50,0%	21,1%	5,6%	0,0%	5,6%	0,0%	17,8%	0,0%	0,0%
Membre superioare	9	1	1	0	0	1	1	0	0
	69,2%	7,7%	7,7%	0,0%	0,0%	7,7%	7,7%	0,0%	0,0%
Membre inferioare	5	6	1	0	0	0	4	0	0
	31,2%	37,5%	6,2%	0,0%	0,0%	0,0%	25,0%	0,0%	0,0%
Altele	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Abdomen	2	2	0	0	0	0	0	0	0
	50,0%	50,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

N = nodular; S = superficial; B-S = bazo-scuamos; I-C = infundibulo-chistic; I = infiltrativ; P = pigmentar; M = morfeiform; C = combinat

Marea majoritate a tumorilor evaluate au fost primare (95,6%), restul, reprezentând recidive tumorale. Un procent semnificativ (8,8% din cazuri) au fost tumori traumatizate

anterior, motiv care a contribuit la modificarea aspectului și prezentarea pacientului la medic. De asemenea, într-un număr semnificativ de cazuri (N=434; 43 respectiv 78) au existat ulcerări, suprainfecții și microcalcificări (Tabel VII.2).

Tabel VII.2. Particularitățile carcinoamelor bazocelulare

CARACTERISTICILE TUMORALE	
Unică / Multiplă	unică = 698 (92,6%) multiplă = 54 (7,2%)
Primară / Recidivă	primară = 721 (95,6%) recidivă = 33 (4,4%)
Traumatizat	nu = 688 (91,2%) da = 66 (8,8%)
Ulcerat	nu = 320 (42,4%) da = 434 (57,6%)
Suprainfectat	nu = 711 (94,3%) da = 43 (5,7%)
Microcalcificări	nu = 676 (89,7%) da = 78 (10,3%)

Capitolul 8 redă informații cu privire la studiul imunohistochimic al CBC. Testele imunohistochimice au fost realizate pe esanțioane cu număr limitat de cazuri. Astfel, AE1/AE3, BerEp4, 34BetaE12, EMA au fost testate în 60 de tumori; p 63, p 53, Bcl 2, CD 10 și Ki 67 în 50 de tumori; EGFR în 15 tumori.

Testarea s-a realizat utilizând blocuri de parafină corespondente tumorilor cu criterii clinice și histopatologice de CBC. În toate cazurile, diagnosticul leziunii a fost confirmat prin identificarea caracteristicilor histopatologice în lamele colorate cu H&E. Preparatele finale, sub forma unor lame cu țesut imunomarcate, au fost obținute folosind tehnici standardizate, urmând un protocol specific în funcție de tipul anticorpului și producătorul acestuia.

În 50 de cazuri a fost testată expresia **P 53**, imunomarcajul fiind absent în 24% dintre acestea (N=12) și având o întindere cuprinsă între 5-25% în 28% din cazuri (N=14),

26-50% în 26% din cazuri (N=13), 51-75% în 14% din cazuri (N=7) și peste 75% în 8% din cazuri (N=4).

Expresia P 53 s-a asociat cu forma histopatologică de CBC ($p < 0.001$, $df = 28$, Cramer's $V = 0.579$, asociere puternică), subtipurile morfeiform, infiltrativ și bazoscuamos caracterizându-se prin expresii crescute, peste 50% și chiar peste 75% pentru carcinomul bazo-scuamos (Fig 8.11).

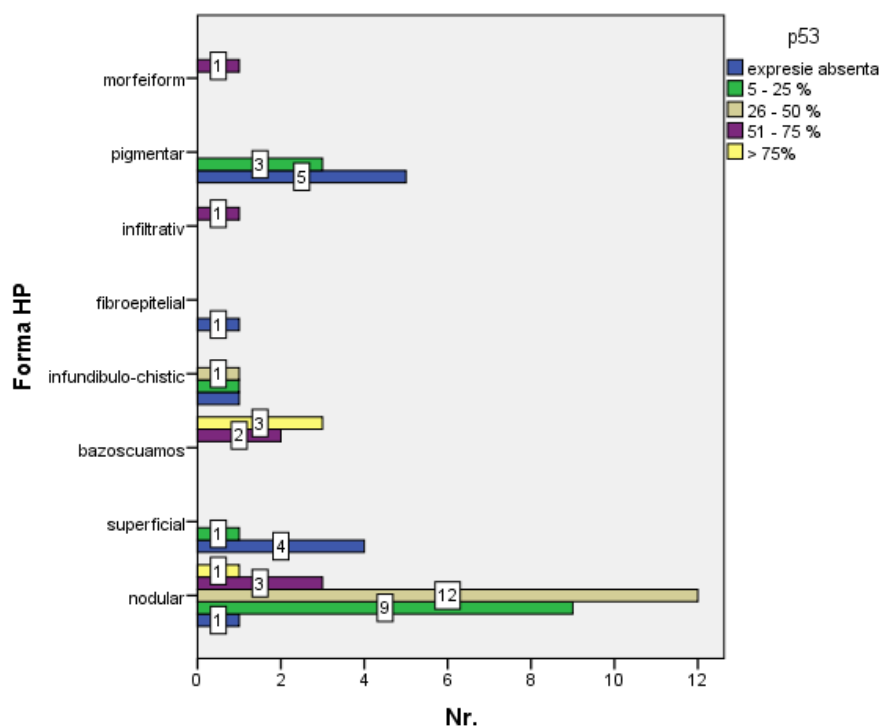


Figura 8.11. Relația dintre expresia P 53 și subtipul histopatologic al carcinoamelor bazocelulare

Capitolul 9 se axează pe rolul vascularizației în CBC. Din lotul inițial, au fost selecționate 30 de cazuri pentru evaluarea densității microvasculare, în primă fază pe preparatele uzuale: lamele colorate H&E. Ulterior, prin intermediul tehnicilor standardizate, descrise în capitolele precedente, structurile vasculare au fost puse în evidență prin teste de IHC și anume pentru CD 34 în toate cele 30 de cazuri. De asemenea, a fost evaluată și expresia VEGF în 20 de cazuri care însă, pe lângă structurile vasculare, a marcat și celulele tumorale.

Expresia **VEGF** a fost analizată în 20 dintre cazurile incluse în studiu, determinându-se două clase de tumori: cele cu mai mult de 10% celule pozitive (expresie

crescută) și cele cu mai puțin de 10% celule pozitive (expresie scăzută). VEGF a fost exprimat în celulele endoteliale ale vaselor de sânge atât din tumoră, cât și peritumoral, în keratinocitele stratului bazal al epidermului, dar și în celulele tumorale, predominant pe frontul tumoral invaziv, în 12/20 de cazuri, expresia VEGF fiind semnificativ mai mare decât în epidermul adiacent.

16 din 20 CBC (80%) au prezentat expresie scăzută VEGF și 4 (20%) au prezentat expresie crescută, majoritatea cu expresie citoplasmatică difuză. La nivelul marginii de invazie s-a constatat în unele cazuri o intensitate mai mare a imunomarcajului, fără semnificație statistică. S-a identificat o corelație semnificativă statistic între expresia VEGF în celulele tumorale și densitatea microvasculară ($p < 0.05$).

Expresia VEGF nu a înregistrat variații semnificative în relație cu caracteristicile pacientului (vârstă, gen), localizarea tumorii, caracterul unic/multiplu, primar/secundar, prezența/absența ulcerăției, suprainfecției, microcalcificărilor, sau traumatizării tumorii. S-a asociat însă cu forma histopatologică ($p = 0.016$, $df = 7$, $\Phi = 0.919$ - putere de asociație puternică), subtipul nodular având exclusiv o expresie scăzută a acestui marker. Subtipul superficial și pigmentar au avut expresie crescută (Figura 9.10).

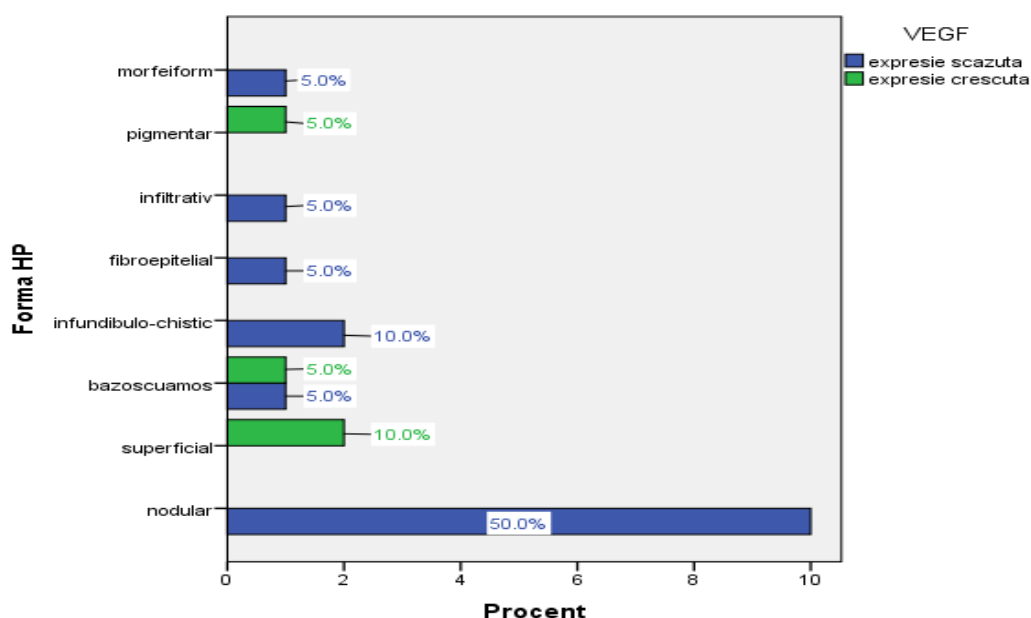


Figura 9.10 Relația dintre subtipul histopatologic de CBC și expresia VEGF

În capitolul 10 am adus o privire de ansamblu asupra rolului radioterapiei în CBC. Scopul acestui studiu a fost de a evalua dacă subtipurile histologice și localizarea CBC, singure, pot fi corelate cu regimurile de radioterapie și ratele supraviețuirii lipsite de boală.

Există multiple tipuri histopatologice de CBC descrise, fără să existe o clasificare unică și general acceptată a acestora. În prezentul studiu, CBC au fost încadrate în patru categorii: nodulare (cu trei variante histologice: ulcerat, cu celule clare și pigmentar), micronodulare, adenoide și ulcerate. Tipul nodular a fost cel mai frecvent în lotul studiat (26 de pacienți), iar distribuția globală a subtipurilor și variantelor histologice poate fi văzută în tabelul următor.

Tabel X.1. Distribuția CBC în funcție de tipul histopatologic, cu doza de radiații aferentă

Tipul histopatologic de CBC	Număr total de pacienți	Număr de pacienți cu recidivă	Doza minimă (Gy)	Doza maximă (Gy)
Nodular	26	10	18	50
Micronodular	1	-	30	30
Adenoid	2	1	10	30
Ulcerat	4	2	30	50

V. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

În cadrul prezentei cercetări doctorale au fost atinse scopul și obiectivele propuse, ce au gravitat în jurul caracterizării CBC, cel mai frecvent tip de tumoră malignă de la nivel cutanat, din punct de vedere clinic, morfopatologic, imunohistochimic, al relației cu micromediul tumoral și în speță cu vascularizația tumorală și identificării rolului radioterapiei în evoluția acestui tip de tumoră.

Studiul s-a desfășurat pe o cohortă care a cuprins 754 de cazuri de CBC, diagnosticate la Spitalul Universitar de Urgență din București. Vârsta pacienților a variat între 19 și 93 de ani, media fiind de 67,5 ani. Raportul dintre genuri în lotul studiat a fost unul în favoarea genului feminin (femei/bărbați: 1,13 /1). La genul feminin, CBC a fost diagnosticat la vârste mai tinere decât la genul masculin.

1. În ceea ce privește topografia tumorilor, majoritatea covârșitoare (peste 90%) a fost localizată pe zonele fotoexpuse, cele mai multe fiind situate la nivelul capului și gâtului, în special la nivelul feței (în ordinea frecvenței: nas, obraji, frunte și zona periorbitală). A urmat localizarea toracală, succedată de membrele inferioare și apoi de cele superioare.

2. Marea majoritate a tumorilor incluse în studiu au fost excizate în limite de siguranță oncologică, la nivelul capului și gâtului însă existând un procent important de cazuri (25%) fără limite de siguranță; de asemenea, la vârste mai tinere s-a practicat mai frecvent excizie cu limite de siguranță oncologică.

3. Din punct de vedere macroscopic, majoritatea tumorilor au avut un aspect nodular, unele cu telangiectazii în suprafață, altele ulcerate, traumatizate, suprainfectate sau prezentând calcificări. Au existat, de asemenea, forme pigmentare, pretându-se la diagnostic diferențial cu tumori melanocitare. Într-o proporție mai mică s-au identificat forme pseudocicatriceale sau superficiale, mimând afecțiuni inflamatorii.

4. Din punct de vedere microscopic, subtipurile histopatologice identificate, în ordinea frecvenței sunt următoarele: tipul nodular – predominant, pigmentar, superficial, bazo-scuamos, infiltrativ, infundibulo-chistic, morfeiform și fibroepitelial.

5. Dintre subtipurile histopatologice, tipul nodular a fost prezent în majoritatea cazurilor (67,1%), urmat de subtipurile pigmentar (10,5%), superficial (6,5%), bazo-scuamos (6,2%), infiltrativ (4,5%), infundibulo-chistic (2,8%), morfeiform (1,5%) și fibroepitelial.

6. Pacienții cu CBC nodular au fost diagnosticați la vârste înaintate (vârsta medie de 67 de ani), în comparație cu cei cu CBC morfeiform (65,7 ani) și superficial (vârsta medie 61 ani). CBC morfeiform a fost diagnosticat predominant de genul feminin.

7. Localizarea și subtipul histopatologic s-au asociat semnificativ statistic, CBC fibroepitelial, regăsindu-se exclusiv la nivelul toracelui; la nivelul capului și gâtului, toracelui, membrilor superioare, abdomenului, cele mai multe tumori au aparținut subtipului nodular; la nivelul membrilor inferioare a predominat tipul superficial.

8. În 7,2% din cazuri au existat tumori multiple, numărul acestora fiind cuprins între 2 și 9, cel mai adesea, tumorile multiple fiind în număr de 2. Procentul cel mai mare de tumori multiple raportat la localizare s-a regăsit la nivelul abdomenului, iar în număr absolut cele mai multe cazuri s-au înregistrat la nivelul capului și gâtului.

9. Marea majoritate a tumorilor evaluate au fost primare (95,6%), restul, reprezentând recidive tumorale. Nu au existat cazuri cu metastaze sau cu evoluție fatală. Pacienții cu CBC au prezentat adesea concomitent și alte leziuni cutanate influențate de expunerea cronică la soare, cum ar fi Keratozele actinice sau lentiginele solare. Recidive tumorale s-au localizat exclusiv la nivelul capului și gâtului.

10. 8,8% din tumorile studiate au fost traumatizate anterior, 57,6 % au fost ulcerate, 5,7 % suprainfectate și 10,3 % au prezentat microcalcificări. Leziunile ulcerate au fost mai frecvente în lotul de studiu la bărbați și la vârste înaintate. Prezența microcalcificărilor s-a asociat semnificativ statistic cu localizarea tumorală, cel mai frecvent fiind întâlnite la nivelul membrilor superioare.

11. Tipul histopatologic s-a asociat semnificativ statistic cu prezența ulcerăției, în subtipul bazo-scuamos existând cel mai mare procent de tumori ulcerate. De asemenea, subtipul histopatologic s-a asociat cu traumatizarea tumorii, prezența suprainfecției și a microcalcificărilor, cele mai multe tumori cu aceste caracteristici fiind de tip nodular.

12. În cazul tipurilor histopatologice morfeiform și infiltrativ, cel mai adesea excizia chirurgicală nu s-a realizat cu limite de siguranță oncologică.

13. Subtipul histopatologic s-a asociat cu caracterul secundar al tumorii, cele mai multe recidive fiind de tip infiltrativ și nodular, urmate de cele de tip bazo-scuamos.

14. Din punct de vedere imunohistochimic, AE1/AE3 și 34BetaE12 au fost pozitive în toate cazurile testate, difuz și intens, în concordanță cu natura epitelială a proliferării tumorale.

15. BerEp4 a fost, de asemenea, pozitiv în toate cazurile testate, 86% de intensitate crescută, 14% de intensitate scăzută, în recidivele tumorale fiind mai frecvent întâlnită o

expresie slab pozitivă, spre deosebire de tumorile primare, la care a predominat expresia intens pozitivă. Expresia intens pozitivă s-a asociat totodată cu forma histopatologică nodulară, pigmentară, fibroepitelială și infundibulo-chistică, pe când cea slab pozitivă s-a asociat cu formele infiltrativă, bazo-scuamoasă și morfeiformă.

16. EMA a fost pozitiv în 11,7% din cazuri, expresia EMA asociindu-se cu subtipul histopatologic bazo-scuamos.

17. P 63 a fost pozitiv în 82% dintre CBC testate, cele mai multe cazuri pozitive înregistrându-se la genul feminin.

18. P 53 a fost pozitiv în 76% dintre cazurile evaluate, cu extensie variabilă intratumorală, asociindu-se cu forma histopatologică, subtipurile morfeiform, infiltrativ și bazo-scuamos înregistrând valori crescute ale acestui marker. De asemenea, valori mai mari s-au înregistrat în recidivele tumorale și în tumorile traumatizate.

19. BCL 2 a fost pozitiv în cazurile testate, cu extindere variabilă, valori crescute înregistrând subtipurile histologice superficial și nodular și valori scăzute în recidivele tumorale.

20. CD 10 a prezentat expresie pozitivă atât în celulele tumorale (80%) cât și stroma intratumorală (14%). Pozitivitatea în celulele tumorale s-a asociat cu localizarea la nivelul capului și gâtului, iar cea de a nivelul celulelor stromale cu formele histopatologice infiltrativă și morfeiformă.

21. EGFR a fost pozitiv în 80% din cazuri, de intensitate variabilă, o expresie crescută asociindu-se cu o vârstă mai tânără a pacientului și cu caracterul secundar al tumorii.

22. Indicele de proliferare Ki 67 a avut valori cuprinse între 3 și 90% din nucleii celulelor tumorale, cu o medie de 19% și o mediană de 15%. La nivelul capului și gâtului, mediana Ki 67 a fost superioară celei de la nivelul toracelui. Subtipul bazo-scuamos a înregistrat cele mai mari valori ale medianei Ki 67. Totodată, recidivele au înregistrat valori superioare tumorilor primare iar tumorile fără limite de siguranță oncologică au valori mai mari decât cele cu limite de siguranță.

23. Densitatea microvasculară peritumorală este superioară celei intratumorale.

24. În ceea ce privește vascularizația intratumorală, 70% dintre tumori s-au caracterizat prin densitate vasculară scăzută și 30% prin densitate vasculară crescută.

25. Pacienții cu densitate vasculară scăzută au avut mediana vârstei mai înaintată decât cei cu densitate vasculară crescută. La nivelul toracelui și membrilor superioare, tumorile s-au caracterizat exclusiv prin densitate vasculară scăzută.

26. Densitatea microvasculară s-a asociat cu tipul histopatologic al tumorii, subtipurile superficial, infundibulo-chistic, fibroepitelial și pigmentar prezentând exclusiv o densitate vasculară scăzută, pe când subtipurile infiltrativ, bazo-scuamos și morfeiform au avut predominant o densitate crescută. De asemenea, recidivele au fost caracterizate prin densitate vasculară crescută, pe când tumorile primare au avut reprezentanți în ambele clase. Tumorile excizate în limite de siguranță oncologică se caracterizează printr-o densitate vasculară cel mai frecvent scăzută.

27. VEGF a fost exprimat în celulele endoteliale ale vaselor de sânge atât din tumoră, cât și peritumoral, în keratinocitele stratului bazal al epidermului, dar și în celulele tumorale, predominant pe frontul tumoral invaziv.

28. 80% dintre tumorile testate au prezentat expresie scăzută VEGF și 20% au prezentat expresie crescută.

29. VEGF în celulele tumorale s-a corelat cu densitatea microvasculară.

30. VEGF s-a asociat cu subtipul histopatologic tumoral, cel nodular având exclusiv o expresie scăzută a acestui marker iar tipurile superficial și pigmentar o expresie crescută.

31. Dintre cele 33 de cazuri tratate cu ajutorul radioterapiei, tipul histopatologic dominant a fost cel nodular. Marea majoritate a fost localizată la nivelul capului și gâtului și doar un mic procent la nivelul trunchiului.

32. 61% dintre cazuri au avut remisiune, 39% dintre cazuri au recidivat după radioterapie.

33. Mediana duratei până la recidivă, în cazurile în care radioterapia nu a fost curativă a fost de 39,5 luni.

34. 85% dintre cazurile recidivate au fost situate la nivelul capului și gâtului, în mod uzual periocular, iar subtipul histopatologic cel mai frecvent a fost cel nodular și ulcerat.

35. Doza totală a RT este foarte variabilă pentru CBC situate pe cap și gât (de la 10 la 48 Gy), dar este întotdeauna peste 30 Gy pentru CBC situate pe trunchi.

Bibliografie selectivă

1. Christenson L.J. Incidence of Basal Cell and Squamous Cell Carcinomas in a Population Younger Than 40 Years. *JAMA*. 2005; 294:681. doi: 10.1001/jama.294.6.681.
2. Göppner D, Leverkus M. Basal cell carcinoma: from the molecular understanding of the pathogenesis to targeted therapy of progressive disease. *J Skin Cancer*. 2011; 2011:650258.
3. Parren LJ, Frank J. Hereditary tumour syndromes featuring basal cell carcinomas. *Br J Dermatol* 2011;165:30
4. Messina J, Epstein E H Jr, Kossard S. Basal cell carcinoma. In World Health Organization Classification of Skin Tumours; Elder D E, Massi D, Scolyer R A, Willemze R, Eds.; IARC Press: Lyon, France, 2018; pp. 26–34.
5. Vega Memije ME, Luna EM, de Almeida OP, Taylor AM, Cuevas González JC. Immunohistochemistry panel for differential diagnosis of Basal cell carcinoma and trichoblastoma. *Int J Trichology*. 2014 Apr; 6(2):40-4. doi: 10.4103/0974-7753.138583..
6. Stanoszek LM, Wang G Y, Harms P W. Histologic Mimics of Basal Cell Carcinoma. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 2017, 141, 1490–1502.
7. Narayanan K, Hadid OH, Barnes EA. Mohs micrographic surgery versus surgical excision for periocular basal cell carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;2: CD007041.
8. Mendenhall WM, Amdur RJ, Hinerman RW, Cогnetta AB, Mendenhall NP. Radiotherapy for cutaneous squamous and basal cell carcinomas of the head and neck. *Laryngoscope*. 2009; 119:1994–9.
9. Skiveren J, Mikkelsen MR, Daugberg H, Wulf HC. Skin reactions and quality of life after X-ray therapy of basal cell carcinoma. *J Skin Cancer*. 2012:825095.
10. Varga E, Korom I, Raskó E, Kis E, Varga J, Oláh J, et al. Neglected basal cell carcinomas in the twenty first century. *J Skin Cancer*. 2011; 2011:392151.
11. Wollina U, Pabst F, Krönert C, Schorcht J, Haroske G, Klemm E, et al. High-risk basal cell carcinoma: an update. *Expert Rev Dermatol*. 2010;5:357–68
12. Kim DP, Kus KJB, Ruiz E. Basal Cell Carcinoma Review. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019 Feb; 33(1):13-24. doi: 10.1016/j.hoc.2018.09.004.

Lista lucrărilor științifice publicate

Articole publicate in extenso în reviste indexate în baze de date internaționale cu cotație CNCSIS B(+)

1. **Naie A**, Dumitru A, Costache S, Tampa M, Matei C, Georgescu S..R, Anghel R, Costache M. *Impact of histological subtypes and anatomic location of basal cell carcinomas on the outcome and the regimen of radiotherapy as a treatment modality*. Medicine in evolution, Vol. XXV, Nr. 3, 2019, 233-238,. ISSN 2065-376X (vezi **Anexa 1, pag. 155-162**).
2. **Naie A.**, 2, Dumitru A. Costache S., Tampa M., Matei C., Georgescu S.-R., Anghel R., Costache M. *Microscopic and macroscopic features of 91 basal cell carcinoma patients, observed throughout a 2 year-period*. Medicine in evolution, Vol. XXVI, Nr. 1, 2020, 1-8, ISSN 2065-376X (vezi **Anexa 2, pag. 163-171**).
3. Mariana Costache, Tiberiu Augustin Georgescu, Ana Maria Oproiu, Diana Costache, **Alexandru Naie**, Maria Sajin, Adriana Elena Nica. *Emerging concepts and latest advances regarding the etiopathogenesis, morphology and immunophenotype of basal cell carcinoma*. Rom J Morphol Embryol 2018, 59(2):427–433 (vezi **Anexa 3, pag. 172-178**).