



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



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

**CORELAȚII HISTOPATOLOGICE, CITOLOGICE ȘI**  
**IMUNOHISTOCHEMICE ÎN NEOPLASMELE TIROIDIENE**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**CONF. UNIV. DR. HABIL. CEAUȘU MIHAIL-CONSTANTIN**

**Student-doctorand:**

**SOBARU CĂS. MOHOREA IULIANA**

**ANUL 2023**

**Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București**  
**Strada Dionisie Lupu nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod**

**fiscal: 4192910 Cont: RO57TREZ70220F330500XXXX, Banca: TREZORERIE sect.**

**+40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722**

**[www.umfcd.ro](http://www.umfcd.ro)**

## Cuprins

|   |           |
|---|-----------|
| <b>INTRODUCERE .....</b>  | <b>5</b>  |
| <b>I. PARTEA GENERALĂ .....</b>   | <b>12</b> |
| <b>1. Elemente de embriologie, anatomie, histologie și fiziologie a glandei tiroide ..</b>                                  | <b>12</b> |
| <b>1.1. Dezvoltarea embriologică a glandei tiroide .....</b>  | <b>12</b> |
| <b>1.2. Aspecte de histologie și fiziologie ale glandei tiroidiene .....</b>  | <b>12</b> |
| <b>2. Epidemiologia și patogeneza cancerului tiroidian .....</b>  | <b>14</b> |
| <b>2.1. Epidemiologia cancerului tiroidian .....</b>  | <b>14</b> |
| <b>2.2. Factori etiologici implicați în dezvoltarea cancerului tiroidian .....</b>  | <b>24</b> |
| <b>3. Aspecte histologice și stadializarea leziunilor tiroidiene maligne .....</b>  | <b>30</b> |
| <b>3.1. Clasificarea histopatologică a leziunilor maligne tiroidiene .....</b>  | <b>30</b> |
| <b>3.2. Clasificarea tumorilor tiroidiene .....</b>   | <b>30</b> |
| <b>3.3. Forme histologice cu potențial agresiv de cancer tiroidian .....</b>  | <b>32</b> |
| <b>II. CONTRIBUȚII PERSONALE .....</b>  | <b>37</b> |
| <b>4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale .....</b>  | <b>37</b> |
| <b>4.1. Scopul și obiectivele cercetării .....</b>  | <b>38</b> |
| <b>4.2. Metodele de cercetare aplicate și rezultatele obținute .....</b>  | <b>38</b> |
| <b>5. Metodologia generală a cercetării .....</b>   | <b>41</b> |
| <b>5.1. Tipul de studiu .....</b>   | <b>41</b> |
| <b>5.2. Analize statistice .....</b>  | <b>42</b> |
| <b>5.3. Etica .....</b>   | <b>43</b> |
| <b>6. Studiul 1: Incidența și corelațiile histopatologice și imunohistochimice în<br/>    carcinoamele tiroidiene .....</b> | <b>44</b> |
| <b>6.1. Introducere (ipoteze de lucru și obiective specifice) .....</b>   | <b>44</b> |
| <b>6.2. Material și metode .....</b>  | <b>44</b> |
| <b>6.3. Rezultate .....</b>   | <b>49</b> |
| <b>6.4. Discuții .....</b>  | <b>70</b> |
| <b>6.5. Concluzii .....</b>   | <b>71</b> |

|  |     |
|--|-----|
| <b>7. Studiul 2: Studiul citopatologic în carcinoamele tiroidiene</b> .....        | 73  |
| <b>7.1. Introducere (ipoteze de lucru și obiective specifice)</b> .....            | 73  |
| <b>7.2. Material și metode</b> .....   | 74  |
| <b>7.3. Rezultate</b> .....  | 77  |
| <b>7.4. Discuții</b> .....   | 96  |
| <b>7.5. Concluzii</b> .....  | 97  |
| <b>8. Studiul 3 - Studiul de morfometrie nucleară în tumorile tiroidiene</b> ..... | 98  |
| <b>8.1. Introducere (ipoteze de lucru și obiective specifice)</b> .....            | 98  |
| <b>8.2. Material și metode</b> .....   | 101 |
| <b>8.3. Rezultate</b> .....  | 106 |
| <b>8.4. Discuții</b> .....   | 115 |
| <b>8.5. Concluzii</b> .....  | 117 |
| <b>9. Contribuții personale și concluzii finale</b> .....                          | 119 |
| <b>Bibliografie</b> .....  | 125 |
| <b>Anexe</b> .....   | 137 |

## **Lista cu lucrările științifice publicate**

### **Incidence of thyroid carcinomas in an extended retrospective study of 526 autopsies,**

**Iuliana Sobaru Mohorea**, Bogdan Socea, Dragoș Șerban, Zenaida Ceausu, Adrian

Tulin, Violeta Melinte, Mihai Ceausu,

Experimental and Therapeutic Medicine

Published online on: April 14, 2021 <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10039>

Article Number: 607

Cotat, indexat ISI, factor de impact: 2.7

<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2021.10039>

Articolul a fost realizat din studiul 1 al lucrării de doctorat (paginile 44-72)

### **Cytomorphological study of thyroid carcinoma**

**Iuliana Mohorea**, Dana Terzea, Daniela Mihalache, Bogdan Socea, Dragoș Șerban, Mihai

Ceausu,

Experimental and Therapeutic Medicine

Published online on: December 6, 2021 <https://doi.org/10.3892/etm.2021.11040>

Article Number: 117

Cotat, indexat ISI, factor de impact: 2.7

<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2021.11040>

Articolul a fost realizat din studiul 2 al lucrării de doctorat (paginile 73-97)

### **Morphometric study in thyroid tumors**

**Iuliana Mohorea**, Bogdan Socea, Alexandru Constantin Carâp, Dragoș Șerban, Zenaida

Ceaușu, Mihail Ceaușu,

Experimental and Therapeutic Medicine

Published online on: September 6, 2023 <https://doi.org/10.3892/etm.2023.12196>

Article Number: 497

Cotat, indexat ISI, factor de impact: 2.7

<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2023.12196>

Articolul a fost realizat din studiul 3 al lucrării de doctorat (paginile 98-118)

## **Lista abrevierilor din text utilizate**

ATA - Asociația Americană de Tiroidă

CEA - antigen carcinoembrionar

CFT - carcinom folicular tiroidian

CK7 - citokeratina 7

CPT - carcinom papilar tiroidian

CMT - carcinom medular tiroidian

EMA - antigen epitelial membranar

MEN - neoplazie endocrină multiplă

PET - CT – tomografia cu emisie de pozitroni-computer tomograf  
protooncogena

RET – protooncogena receptor de tirozin kinază

PCNA - antigenul de proliferare nucleară celulară

PNST - tumoră de teacă de nerv periferic

TSH - hormon tireostimulator

TTF1- factorul 1 de transcripție tiroidian

## **Stadiul actual al cunoștințelor în domeniul tumorilor tiroidiene**

Glanda tiroidă este un organ mic, situat în partea anterioară a gâtului, cu formă de fluture având o importanță covârșitoare în funcționarea fiecărei celule, țesut sau organ. Carcinomul tiroidian este o afecțiune malignă rară, însumând aproximativ 1% din totalitatea tumorilor umane prezente în populația generală, întâlnite în țările dezvoltate și cu toate acestea reprezintă cea mai frecventă malignizare a sistemului endocrin. Dintre neoplasmele endocrine, tumorile glandei tiroide se întâlnesc cu frecvența cea mai crescută, apărând în 92% din cazuri. Studiile au arătat o creștere a incidenței de 8,7-9 cazuri/100000 locuitori pe an, arătând o creștere marcată de 310% în ultimele cinci decade. Creșterea incidenței acestor neoplasme se explică cel mai probabil de aplicarea metodelor moderne de diagnosticare ce pot detecta cu precizie și tumori de dimensiuni foarte mici, infracentimetrice. De asemenea mortalitatea prin cancerul tiroidian a scăzut de la 44% la 0,3% datorită metodelor actuale de diagnosticare și tratare. Marea majoritate a pacienților cu carcinoame tiroidiene de diferite tipuri având un prognostic foarte bun, după aplicarea tratamentului, cu supraviețuire de peste 98% cazuri.

Cazurile raportate în publicațiile medicale, raportează o prevalență de 50% a nodulilor detectați în timpul autopsiilor la subiecți care nu se știau cu patologie tiroidiană și o prevalență cuprinsă între 1,0% și 35,6% a carcinoamelor oculte tiroidiene detectate în diferite serii de autopsii sistematice.

Patologia tiroidiană, deși reprezintă doar 1% din toate malignitățile întâlnite, este o patologie din ce în ce mai comună în întreaga lume. De aceea, an de an, acest subiect este discutat și analizat în prezentări la diferite sesiuni ale întâlnirilor din lumea științifică medicală a endocrinologilor. Incidența cancerului de tiroidă s-a triplat în ultimii 30 de ani, cu creșterea marcată a tumorilor de mici dimensiuni, în timp ce mortalitatea a rămas stabilă conform datelor furnizate de către Asociația Americană de Endocrinopatologie și de Colegiul American al Endocrinopatologilor.

Studierea caracteristicilor și înțelegerea avansată a mecanismelor ce stau la baza caracteristicilor biologice ale carcinoamelor tiroidiene au dus la implementarea unor linii directoare pentru aplicarea schemelor și protocoalelor terapeutice. Totuși există încă o serie de întrebări practice care rămân nerezolvate sau controversate, de exemplu extinderea intervenției chirurgicale la cazurile cu potențial agresiv. Incidența crescută a cancerului

tiroidian este considerat a fi rezultatul probabil a două procese coexistente: pe de o parte depistarea crescută a numărului de cazuri, ca urmare a carcinogenelor specifice tiroidiene și pe de altă parte a identificării unor rezervoare mari de leziuni papilare subclinice care nu influențează sănătatea pacientului.

Glanda tiroidă, se poate investiga amănunțit prin metode imagistice de tipul: ecografiei, scintigrafiei, tomografiei computerizate, PET-CT, rezonanța magnetică , dar acestea nu pot stabili caracterul de malignitate al tumorilor, având un rol foarte important în stabilirea evaluării regionale și la distanța a gradului de extensie tumorală.

Managementul anatomo-patologic al investigațiilor glandei tiroide începe cu examinarea citologică. Aceasta este etapa preoperatorie utilizată la scară largă ca metodă de triere preoperatorie, capabilă să stabilească un diagnostic cert de benignitate sau malignitate.

Cu toate că punția biopsică aspirativă cu ac fin, urmată de examinarea citologică sunt considerate a fi proceduri cu grad înalt de sensibilitate și senzitivitate, diagnosticul de certitudine se stabilește ulterior doar prin examinare histopatologică.

Limitele acestei tehnici sunt reprezentate de dificultatea de a diferenția celulele maligne în leziuni ce conțin un număr important de celule aparent benigne (de exemplu în cazul citodiagnosticului neoplasmului folicular, care poate fi ușor de confundat cu adenomul folicular). Invazia capsulară sau vasculară fiind de asemenea un subiect controversat în stabilirea diagnosticului definitiv de malignitate sau de benignitate, Astfel, aceste frotiuri necesită investigații suplimentare complexe citochimice și uneori metode adjuvante de morfometrie computerizată.

În general tumorile tiroidiene au evoluție favorabilă, cu supraviețuire la cinci ani de mai mult de 98%, dar există și variante agresive cu comportament clinic variat, evoluție și prognostic nefavorabil.

Diagnosticarea histologică a acestor forme agresive poate reprezenta o adevărată provocare pentru anatomopatolog, multe având caracteristici comune. Toate aceste cazuri necesită diagnostic histopatologic complex, adaptat fiecărui caz în parte pentru a obține maximum de eficiență.

În aceste cazuri, morfometria nucleară computerizată poate fi un instrument de evaluare eficient, cu costuri minime în evaluarea stabilirii trăsăturilor histologice. Folosind morfometria nucleară, putem aprecia un număr de parametri importanți în ceea ce privește mărimea și forma nucleilor, cu rol important în facilitarea diagnosticării diferitelor neoplasme. Cercetarea literaturii de specialitate dedicate aplicațiilor de morfometrie

computerizată pentru studiul histologic al leziunilor tiroidiene relevă existența unui număr relativ mic de lucrări, comparativ cu publicațiile axate pe morfologia microscopică citologică tiroidiană. Acest fapt se explică prin complexitatea demersului de investigare computerizată, ce impune existența unei tehnologii specializate software bazată pe inteligență artificială.

## **Ipoteza de lucru**

Pe baza cercetărilor studiilor din literatura de specialitate, s-a pornit de la ipoteza care afirmă că cel mai frecvent neoplasm al sistemului endocrin, se găsește la nivelul glandei tiroide, cu o creștere semnificativă în ultimele decenii, în mare parte explicată prin aplicarea metodelor moderne de diagnosticare. Cu toate că în general tumorile tiroidiene au în general o evoluție favorabilă, există și variante agresive cu prognostic nefast.

Lucrarea de doctorat și-a propus studierea tumorilor tiroidiene punându-se accent pe corelațiile histopatologice, identificarea și definirea parametrilor clinico-epidemiologici, imunohistochimici și citologici, precum și analizarea datelor obținute prin efectuarea de măsurători a parametrilor nucleari prin mijloace de investigație de morfometrie microscopică, cu scopul de a extinde cunoștințele asupra carcinoamelor tiroidiene .

Teza doctorală cuprinde trei studii pe cazuri de tumori tiroidiene detectate incidental și cazuri selectate cu tumori tiroidiene cu potențial de agresivitate crescut.

În primul studiu au fost evaluate glandele tiroide, într-o serie de 526 de autopsii efectuate în intervalul ianuarie 2017 - februarie 2020 în cadrul secției de Medicină Legală a Spitalului Județean Clinic de Urgență Brăila, cu scopul de a identifica prevalența carcinoamelor tiroidiene, printre variatele leziuni nodulare tiroidiene, detectate incidental în cursul efectuării necropsiilor. S-a urmărit distribuția tumorilor tiroidiene în lotul studiat, corelațiile cu privire la mediul de proveniență al pacienților (urban/rural), repartizarea în funcție de vârstă, sex, localizarea tumorilor la nivelul lobilor tiroidieni, influența factorilor de mediu, posibilele asocieri cu tiroiditele autoimune, cu bolile metabolice, obezitatea, precum și cu bolile cardiovasculare.

În studiul 2, lotul de cercetare a fost lărgit astfel: la cele 51 de tumori detectate incidental în cursul efectuării autopsiilor, s-au adăugat încă 17 cazuri, selectate din registrele histopatologice în perioada 2016- 2021 cu tumori tiroidiene cu forme histologice ce aveau potențial agresiv, de la pacienți operați în secțiile de chirurgie și de la pacienți aflați în evidențele secției de oncologie, din cadrul Spitalului Județean Clinic de Urgență, Brăila.



În total în studiul 2 au fost incluse 68 de cazuri care prezentau tumori tiroidiene. Dintre acestea 60 au fost carcinoame papilare, 4 carcinoame foliculare, două carcinoame tiroidiene slab diferențiate, un caz de carcinom tiroidian medular și un caz de carcinom scuamos tiroidian.

S-au reanalizat carcinoamele papilare pentru a stabili subtipul histologic, dintre acestea marea majoritate erau microcarcinoame, dar au fost și cinci carcinoame considerate a avea potențial agresiv înalt: 2 cazuri de carcinoame papilare varianta cu celule înalte, un caz de carcinom papilar cu scleroză difuză, un caz de carcinom papilar varianta hobnail, precum și un caz de carcinom papilar, varianta foliculară difuză.

Cazurile preluate de la pacienții din secțiile de chirurgie și cei aflați în secțiile de oncologie au beneficiat și de citopuncție aspirativă cu ac fin, înainte de aplicarea procedurilor terapeutice specifice și chirurgicale. La aceștia s-au putut realiza corelații între froiturile citologice și froiturile permanente obținute în urma prelucrării pieselor histopatologice, care au fost testate și imunohistochimic. S-a urmărit distribuția formelor histopatologice ale tumorilor tiroidiene în lotul studiat, corelațiile în ceea ce privește vârsta, sexul, tipurile de intervenții chirurgicale aplicate, includerea lor în programele naționale oncologică, iar în cazurile avansate monitorizarea și aplicarea de tratamente de îngrijiri paliative avansate în cadrul centrelor specializate.

Pentru studiul al treilea au fost analizate prin morfometrie nucleară un număr de 36 de cazuri cu diferite leziuni tiroidiene benigne (10 adenoame foliculare) și maligne (10 carcinoame foliculare, 10 carcinoame papilare varianta foliculară, 4 cazuri de carcinom papilar, varianta cu scleroză difuză și 2 cazuri nediferențiate), selectate din cadrul Departamentelor de anatomie patologică și medicină legală ale Spitalului Județean Clinic de Urgență Brăila, pe o perioadă de 5 ani (2017-2021).

Scopul acestui studiu a fost acela de a dezvolta și aplica o metodă complementară, de morfometrie nucleară ce permite diferențierea tumorilor benigne de cele maligne, folosind un sistem ce poate fi cu ușurință reprodus în orice laborator, ca instrument de ajutor în cazurile cu leziuni tiroidiene dificil de diagnosticat.

Utilizarea analizelor morfometrice pe froituri tiroidiene nu este o practică de rutină, aceasta se folosește limitat, doar în studii efectuate în cazul unor cercetări științifice.

## Obiectivele studiului

Obiectivele generale ale lucrării doctorale au vizat detectarea incidenței tumorilor tiroidiene într-o serie de autopsii, analizarea corelațiilor clinico-biologice, histopatologice, citologice și imunohistochimice a unor tipuri de tumori tiroidiene cu potențial agresiv, precum și dezvoltarea și aplicarea unei metode de morfometrie nucleară cu scopul de a stabili diferențierea tumorilor benigne tiroidiene de cele maligne tiroidiene.

În acest scop pentru realizarea obiectivelor propuse studiul doctoral a început cu efectuarea unei revizuri amănunțite literaturii de specialitate prin căutarea publicațiilor științifice din ultimii cinci ani cu realizarea unei meta-analize pentru a identifica toate articolele cu potențial relevant pentru scopul propus care îndeplineau următoarele criterii:

- aveau incluse tumori tiroidiene;
- articolele din literatura de specialitate revizuite erau scrise în marea majoritate în limba engleză (câteva în limba spaniolă) și au fost accesate prin intermediul bibliotecii virtuale a U. M. F. "Carol Davila" București.

Au urmat stabilirea criteriile de selecție pentru alcătuirea loturilor de studiu:

- speciemenle de țesuturi tiroidiene au provenit din recoltări în timpul autopsiilor sau din piese de tiroidectomie din cadrul operațiilor chirurgicale;
- piesele examinate aveau descrise caracteristici clinico-patologice pentru fiecare caz în parte în cadrul dosarelor de autopsie sau în cadrul fișelor medicale;
- subiecții incluși în studiu proveneau din populația generală, cu domiciliu în mediu urban sau rural, fără a avea restricție de vârstă, fiind de ambele sexe;

În studiul doctoral s-au efectuat următoarele proceduri și analize complexe histopatologice:

- piesele de tiroidectomie selectate au fost prelucrate histologic, analizate microscopic și testate imunohistochimic folosind un panel de 7 anticorpi: CK7, TTF1, tireoglobulină, EMA, VIM, Ki 67, p53.
- cazurile cu tumori tiroidiene cu potențial agresiv au beneficiat și de citopuncție aspirativă cu ac fin și ulterior de evaluare a froiturile citologice
- Pentru toate piesele histologice s-a obținut consimțământul informat al pacienților sau al aparținătorilor legali ;
- s-au examinat datele prezente în dosarele de autopsiei;

- s-au realizat fotografiile digitale anterior prelevării, cu piesa histologică aflată în situ, fotografiile digitale în timpul orientării macroscopice, înainte și după secționarea specimenelor recoltate/primate din sălile de autopsiei;
- s-au efectuat fotografiile microscopice cu cameră Mshot integrată în ansamblul sistemului trinocular al microscopului.
- s-au selectat cazurile cu leziuni tiroidiene foliculare, de tipul adenoamelor foliculare, carcinoamelor papilare în varianta foliculară, carcinoamele foliculare precum și carcinoamele slab diferențiate pentru a fi examinate prin tehnici de morfometrie nucleară microscopică

## **Metodologia generală a cercetării**

Cazuistica prezentată în această lucrare cuprinde tumori tiroidiene operate și diagnosticate în secțiile de chirurgie ale Spitalului Județean de Urgență Brăila, precum și piese de tiroidectomie recoltate în cadrul autopsiilor seriate efectuate pe secția de medicină legală.

În studiul de față au fost evaluate o serie de tiroide recoltate în cursul efectuării a 526 de autopsii în intervalul ianuarie 2017- februarie 2020 precum și un număr de 36 cazuri cu tumori tiroidiene, selectate din registrele Serviciului de Anatomie Patologică, într-o perioadă de cinci ani (2017-2021), operate în Departamentele de Chirurgie sau aflate în evidența Secției de Oncologie a Spitalului Județean de Urgență Brăila.

S-a urmărit distribuția formelor histopatologice ale tumorilor tiroidiene în lotul studiat, corelațiile morfometriei în diagnosticul diferențial al leziunilor tiroidiene benigne, de cele maligne și în mod special în formele cu potențial agresiv ridicat, evaluarea impactului clinic precum și identificarea factorilor de prognostic și agresivitate al acestor tumori.

Studiul a fost aprobat de Consiliul Etic al Spitalului Județean de Urgență Brăila și a fost condus în acord principiile declarației universale de la Helsinki, precum și a legislației aflate în vigoare în țara noastră (Legea 104/2003 privind manipularea cadavrelor umane).

S-au verificat anexele de însoțire ale produselor biologice (în care pacienții/apartinătorii legali își exprimă acordul în vederea folosirii materialului biologic, inclusiv în scop științific) avizat de comisa de etică instituțională, respectând standardele

etice din “Declarația de la Helsinki” din 1975, revizuită în 2000, precum și condus în acord legislația națională.

## **Studiul 1: Incidența și corelațiile histopatologice și imunohistologice în carcinoamele tiroidiene**

S-a pornit de la ipoteza generală care arată că detectarea carcinomului tiroidian are o incidență globală mai mare decât în alte tipuri de tumori.

În primul studiu s-au efectuat prelevări seriate de glandă tiroidă în cursul efectuării a 526 de autopsii într-un interval de trei ani, cuprins în intervalul ianuarie 2017- februarie 2020, din care s-a alcătuit lotul de studiu.

Piese de tiroidectomie totală au fost examinate macroscopic, cu minuțiozitate cu scopul de a detecta eventuale modificări patologice.

S-a realizat o bază complexă de date care a inclus următoarele variabile: vârsta, sexul, factorii de mediu, fumatul și factorii clinici considerați ca fiind legați de risc pentru apariția cancerului tiroidian.

S-a notat și prezența comorbidităților prezente, reprezentate de boli cronice, în special a bolilor cardio-vasculare, bolilor metabolice, diabetului zaharat, precum și prezența excesului ponderal.

Glanda tiroidă a fost recoltată în cursul efectuării autopsiei prin disecția și separarea cu atenție sporită, plan cu plan, de țesuturile moi aflate în jurul lojei tiroidene.

S-a constatat prezența tumorilor tiroidiene în 51 de cazuri, din cele 526 de autopsii efectuate, aceste tumori tiroidiene au fost în cea mai mare parte microcarcinoame papilare (47 cazuri), care au urmat un parcurs cu o evoluție indolentă, fără răsunet clinic, trei cazuri au fost carcinoame nediferențiate și un caz a fost încadrat ca fiind carcinom tiroidian scuamos.

Distribuția localizării nodulilor maligni a fost mai mare la nivelul lobului drept, fiind de 54,1% la nivelul lobului tiroidian drept și de 43,1% la nivelul lobului tiroidian stâng, un procent de 9% având localizare multifocală, diseminată la nivelul ambilor lobi tiroidieni.

Incidența patologiei tiroidiene asociată cu bolile cardio-vasculare a avut următoarea distribuție:

- 67,3% au avut boli cardio-vasculare cronice - de tip miocardofibroză;
- 5,3% au avut boli cardio-vasculare cronice asociate cu ischemii miocardice acute;

- 7,8% au avut ischemii miocardice acute.

Neoplazia s-a întâlnit în 51 de cazuri, fiind de trei ori mai frecventă la bărbați decât la femei.

Marea majoritate a tumorilor au fost microcarcinoame papilare (47 cazuri), carcinoame nediferențiate 3 cazuri, un caz scuamos. Cel mai tânăr pacient avea 40 de ani iar cel mai în vârstă 94 de ani. Asocierea cu altă patologie tiroidiană întâlnită în cazurile neoplazice a fost următoarea:

Distribuția urban/rural întâlnită la pacienții cu neoplazii a fost aproximativ egală. În cea ce privește relația de asociere dintre obezitate și patologie tiroidiană a arătat: un procent de 33,3% din cazuri cu prezența de țesut adipos în exces, obezitatea fiind de toate gradele, 52% din cazuri au avut țesut adipos normal reprezentat, iar 19,5% din cazuri au prezentat țesut adipos slab reprezentat.

Dintre cele 51 de tumori tiroidiene 47 au fost carcinoame micropapilare, trei carcinoame nediferențiate și unul scuamos.

Carcinoamele papilare au prezentat tipic proiecții papilare alcătuite din tije fibrovasculare, tapetate cu celule cuboidale, citoplasma eozinofilă, nucleii fiind cu margini neregulate și aspect palid, goi neregulați, având trăsăturile nucleare clasice: nuclei veziculari, aglomerați, suprapuși, optic clari, de tip „Orphan Annie eyes”, cu contururi neregulate.

O trăsătură tipică, dar nefiind considerată a fi patognomonică care s-a întâlnit, a fost prezența de corpi psamomatoși, trăsătură care s-a evidențiat în cinci cazuri de microcarcinoame papilare tiroidiene.

Carcinoamele cu dimensiuni mai mici de 1 cm au fost încadrate, conform clasificărilor ca fiind microcarcinome papilare.

Au fost selectate cinci cazuri tumorale la care s-au folosit colorații imunohistochimice: un carcinom scuamos, trei carcinoame nediferențiate și un carcinom papilar.

Testele imunohistochimice au exprimat următoarele rezultate, și datele obținute au fost sumarizate în tabelul de mai jos:

**Tabelul nr. 1.** Expresia marker-ilor imunohistochimici

| Nr. crt. | Markeri IHC    | Carcinom nediferențiat (caz 1) | Carcinom cu celule scuamoase | Carcinom nediferențiat (caz 2) | Carcinom papilar     | Carcinom nediferențiat (caz 3) |
|----------|----------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|----------------------|--------------------------------|
| 1.       | Citokeratin 7  | pozitiv difuz                  | pozitiv zonal                | pozitiv zonal                  | pozitiv difuz        | pozitiv zonal                  |
| 2.       | EMA            | pozitiv difuz                  | pozitiv difuz                | pozitiv difuz                  | pozitiv difuz        | pozitiv difuz                  |
| 3.       | TTF 1          | negativ                        | negativ                      | negativ                        | negativ              | negativ                        |
| 4.       | Ki67           | 5-6% pozitiv nuclear           | 25% pozitiv nuclear          | neconcludent                   | 3-5% pozitiv nuclear | 10% pozitiv nuclear            |
| 5.       | p53            | negativ                        | negativ                      | negativ                        | negativ              | negativ                        |
| 6.       | Vimentina      | negativ                        | negativ                      | neconcludent                   | negativ              | negativ                        |
| 7.       | Tireoglobulina | pozitiv                        | pozitiv                      | pozitiv                        | pozitiv              | pozitiv                        |

Citokeratina 7 a fost difuz pozitivă la nivelul membranei celulelor tumorale din carcinoamele papilare și a avut expresie exprimată focal, în tumorile cu celule scuamoase și în tumorile nediferențiate. Citokeratina CK7 a fost pozitivă zonal în celulele tumorale din insulele cu carcinom scuamos având control pozitiv, conservat în celulele epiteliale foliculare. Citokeratina CK7 a evidențiat o reacție pozitivă în nucleii celulelor tumorale și la nivelul calcosferitelor subcapsulare în două cazuri de carcinoame nediferențiate tiroidiene, iar în al treilea caz de carcinom nediferențiat, care a prezentat arii de necroză întinsă, cu artefacte de expresie, markerul CK7 s-a exprimat zonal în celulele tumorale.

Citokeratina CK7 a exprimat pozitivitate difuză în celule tumorii papilar-chistice și la nivelul ariilor de sclero-hialinizare distrofice în cazul carcinomului papilar.

EMA – antigenul de membrană epitelială a fost difuz pozitiv în toate carcinoamele tiroidiene.

Markerul TTF1 a fost negativ în majoritatea cazurilor cu tumori papilare, exprimând un control conservat pozitiv în epiteliile celulelor foliculare, și a avut exprimare negativă la nivelul tumorii în primul caz de carcinom nediferențiat.

Markerul TTF1 a fost pozitiv aproape difuz, în celelalte două cazuri de tumori nediferențiate, la nivel nuclear și a evidențiat o reacție pozitivă zonal, intensitatea fiind mai slabă în zonele cu necroză având diverse tonalități maronii.

Markerul TTF1 a exprimat o reacție pozitivă difuză într-un caz de carcinom papilar, la nivelul celulelor tumorale.

Tiroglobulina a fost pozitivă în toate cazurile, cu expresie pozitivă de 7-8% la nivelul nucleilor celulelor tumorale în carcinoamele nediferențiate și de 3-5% în nucleii celulelor tumorale din carcinoamele papilare și în 20-25% din nucleii celulelor din carcinomul scuamos.

Indicele de proliferare Ki67 a fost exprimat în nucleii celulelor tumorale, în 25% din celulele scuamoase bine diferențiate, bazale și parabazale; în zonele cu formare de keratină și parakeratină nu a fost observată nici o expresie.

Antigenul tumoral al proteinei p53 a fost negativ în toate cazurile neoplazice, inclusiv în cazurile nediferențiate și în cel cu diferențiere scuamoasă, anticorpii nucleari fiind afectați de autoliză și necroză, iar reacția antigen-anticorp a avut expresia pierdută.

Indicele de proliferare Ki67 a exprimat nucleii pozitivi, maronii, pe fond maroniu, în procent de 25% din celule tumorale scuamoase bine diferențiate, bazale și parabazale, la nivelul straturilor superioare, nevizualizându-se, deoarece keratina și parakeratina nu exprimă factori de proliferare. Indicele de proliferare Ki67 a exprimat pozitivitate subcapsular, în celulele tumorale într-un procent de 5-6% în carcinoamele de tip papilar, respectiv 75-80% în celulele tumorale din două dintre carcinoamele nediferențiate și a fost neconcludent în cel de al treilea caz de carcinom tiroidian nediferențiat, unde a exprimat o pozitivitate de maxim 3% în țesutul tiroidian, anticorpii nucleari fiind afectați de autoliză și necroză astfel că în reacția antigen-anticorp nucleul și-a pierdut expresia. Indicele de proliferare tumorală Ki67 a exprimat o pozitivitate de 3-5% în nucleii celulelor tumorale în cazul carcinomului scuamos.

Markerul Vimentina a fost neconcludent în carcinoamele nediferențiate și a fost negativ în celulele tumorale papilare, exprimându-se doar la nivelul stromei și vaselor sanguine, care au fost folosite ca test-control.

## **Studiul 2: Studiul citomorfologic în tumorile tiroidiene**

În studiul 2 lotul de studiu ce cuprindea 51 de tumori descoperite incidental în cadrul efectuării autopsiilor, a fost lărgit prin introducerea a încă 17 cazuri selectate din registrele histopatologice între anii 2016-2021 cu tumori tiroidiene de la pacienți operați în secțiile de chirurgie și de la pacienți aflați în evidențele secției de oncologie care au prezentat tumori cu forme ce aveau potențial agresiv.

În total în studiu au fost incluse 68 de cazuri care prezentau tumori tiroidiene. Dintre acestea 60 au fost carcinoame papilare, 4 carcinoame foliculare, două slab diferențiate, unul medular și unul scuamos.

Carcinoamele papilare au fost reanalizate cu atenție pentru a se putea stabili subtipul histologic. S-au identificat microcarcinoame în marea majoritate a cazurilor (55 de cazuri), dar și 5 cazuri cu variante de carcinom papilar cu potențial agresiv printre care: varianta cu celule înalte (2 cazuri) și câte un caz pentru variantele cu scleroză difuză, varianta hobnail, varianta difuză foliculară.

Caracteristicile citomorfologice întâlnite în cazurile studiate care au prezentat potențial agresiv au fost sumarizate în tabelul de mai jos:

Tabelul nr. 2 Caracteristici morfopatologice în tumorile cu potențial agresiv

| Trăsături citomorfologice          | Arhitectură  | Fundal                     | Nuclei  | Cromatina nucleară            | Mitoze    | Citoplasma                           | Psammoma bodies |
|------------------------------------|--|----------------------------|---|-------------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------------|
| <b>Carcinom cu celule înalte</b>   | celule de 3x mai înalte decât late                     | absent                     | formă alungită cu trăsături specifice de carcinom papilar | microgranular                 | obișnuite | eozinofilică cu trăsături oncocitice | rari            |
| <b>Varianta hobnail</b>            | micropapilară  | absent                     | localizați apical, formă ovală/cuboidală                  | clară                         | rare      | eozinofilică                         | rari            |
| <b>Varianta cu scleroză difuză</b> | celule coezive grupate tridimensional                  | limfocite prezente         | trăsături specifice de carcinom papilar                   | clară                         | rare      | densă cu vacuole mari                | abundenți       |
| <b>Varianta foliculară difuză</b>  | structuri foliculare                                   | absent                     | pleomorfi cu trăsături specifice carcinomului papilar     | fin granulară                 | rare      | puțină                               | rari            |
| <b>Carcinomul nediferențiat</b>    | pattern solid, trabecular, insular                     | diateză tumorală           | pleomorfi/formă rotundă, ovală                            | microgranular „sare și piper” | prezente  | puțină, de tip oncocitic             | absenți         |
| <b>Carcinomul folicular</b>        | foliculi bine definiți, pattern solid/trabecular       | cel. foliculare, limfocite | nuclei rotunzi/ovalari                                    | granulară                     | prezente  | eozinofilic, granulară               | absenți         |
| <b>Carcinomul medular</b>          | pattern carcinoid, tubular, folicular, glandular       | depozite de amiloid        | mărime medie în celule rotunde/poligonale                 | microgranular                 | obișnuite | amfofilă                             | absenți         |
| <b>Carcinomul scuamos</b>          | celule maligne, izolate sau agregate pseudo-sincitiale | diateză tumorală           | pleomorfi, hipercromatici                                 | macrogranular                 | obișnuite | matură densă, cheratinizată          | absenți         |



Pacienții diagnosticați preoperator prin puncție aspirativă cu ac fin în cazurile cu variante agresive au fost supuși unui tratament chirurgical operator cu disecție extinsă în regiunea gâtului, au beneficiat de scanări imagistice, pentru a exclude eventuala prezentă a metastazelor și au fost incluși mai rapid în programele naționale oncologice. Mai mult acești pacienți au necesitat o supraveghere și monitorizare atentă, iar în cazurile avansate de boală au beneficiat de îngrijiri paliative complexe. În acord cu literatura, variantele agresive sunt responsabile în majoritatea cazurilor de apariția recurențelor și de creșterea morbidității. Recunoașterea variantelor agresive impune aplicarea de la început a unui tratament chirurgical mai agresiv cu optimizarea și minimalizarea apariției sechelelor postterapeutice și evitarea unor reintervenții chirurgicale.

Pe unele frotiuri citologice nu a fost posibilă diagnosticarea specifică a unui subtip histologic agresiv de carcinom tiroidian. Oricum și în aceste cazuri, au fost detaliate caracteristicile morfologice vizualizate semnalizând posibilitatea existenței unei variante agresive de carcinom tiroidian, în special în cadrul leziunilor foliculare, greu de diferențiat pe buletinele citologice notându-se suspiciunea pentru neoplazie foliculară.

Caracteristicile citomorfologice, corelate cu datele clinice, markerii imunohistochimici și cu profilul molecular au putut elucida eficient și în timp util cazurile complexe și dificile.

### **Studiul 3 – Studiu de morfometrie nucleară în tumorile tiroidiene**

Studiul al 3 lea a avut ca scop studierea corelațiile datelor obținute prin morfometrie nucleară în stabilirea diagnosticului diferențial al leziunilor tiroidiene benigne, de cele maligne și în mod special în formele cu potențial agresiv ridicat.

Materialul de studiu a fost compus din 36 de cazuri cu leziuni tiroidiene diferite selectate, diagnosticate în cadrul Departamentului de Patologie al Spitalului Județean Brăila într-o perioadă de cinci ani (2017-2021). Dintre acestea încadrarea sub raportul diagnosticului a permis gruparea în leziuni benigne (adenoame foliculare- 10 cazuri) și maligne (carcinoame foliculare- 10 cazuri, carcinoame papilare varianta foliculară -10 cazuri, carcinoame papilare- varianta cu scleroză difuză-4 cazuri, carcinoame nediferențiate- 2 cazuri).

Lotul martor a fost alcătuit din tireocitele normale aflate în țesutul tiroidian adiacent țesutului cu leziuni tiroidiene.

Au fost excluse din studiu cazurile speciale cu celule oncocitice, de tip Hurthle care prezentau anomalii nucleare pentru a nu apărea erori majore în cadrul măsurătorilor și ulterior în efectuarea analizelor statistice.

Procesul de colectare a datelor obținute din măsurători s-a realizat printr-o metodă manuală de colectare cu selectarea interactivă a celulelor reprezentative și a trăsăturilor morfometrice de interes.

Analiza morfometrică s-a realizat fără a cunoaște diagnosticul final, eliminându-se în acest mod, orice influență părtinitoare. Digitizarea diapozitivelor s-a realizat la o mărire de putere (400x) pentru a avea un grad de rezoluție sporit al imaginii. Acesta a permis efectuarea de măsurători adecvate de morfometrie la scară micrometrică. Realizarea captării unui câmp microscopic mai mare de celule ar fi presupus folosirea unei magnificări de putere mai mică (200x), însă, acest lucru, ar fi limitat gradul de rezoluție al imaginii. Calibrarea măsurătorilor efectuate s-a realizat cu ajutorul unei lame micrometrică cu scală etalonată de 0.1mm Mshot.

Pe fiecare lamă din cazurile selectate s-au analizat în medie 5-10 câmpuri microscopice, la o mărire de 400x. S-au măsurat în medie 50 nuclei pe fiecare câmp microscopic. Au fost incluși doar nucleii cu contur bine vizualizat. Au fost excluși nucleii celulelor stromale, zonele cu nuclei fragmentați sau cu nuclei suprapuși. S-au efectuat măsurători pe un număr de 10 parametri morfometrici nucleari. Pentru obținerea acestor parametri nucleari s-au folosit instrumentele de desenare din cadrul programului Digimizer, urmat de prelucrarea datelor obținute.

### **Analizele statistice**

Datele colectate au fost analizate statistic cu ajutorul software-ului Minitab v19.

S-a utilizat testul two-way mixed ANOVA, urmat de testul post hoc Bonferroni pentru a aprecia diferențele dintre grupurile cu celule normale și grupele alcătuite din celule tumorale, din cazurile selectate cu adenoame foliculare, carcinoame papilare cu variantă foliculară, carcinoame foliculare, precum și carcinoame de tip nediferențiat.

Nucleii celulelor carcinoamele papilare tiroidiene au arătat valori semnificativ mai mari decât nucleii din grupul cu tireocite normale, precum și față de nucleii din grupul cu adenoame tiroidiene.

**Tabelul nr. 3** Comparația parametrilor nucleari

| Variabila                      | Grup cu celule normale -<br>Grupul cu celule de adenom folicular |  | Grup cu celule normale -<br>Grupul cu celule de carcinom folicular |  | Grupul cu celule normale -<br>Grupul cu celule de carcinom papilar<br>varianta foliculară |  | Grupul cu celule normale -<br>grupul cu celule de carcinom nediferențiat |   |
|--------------------------------|--|--|--|--|---|--|--|---|
|                                | Mean ± SD<br>Normal<br>N=2754                                    | Mean ± SD<br>Adenom<br>folicular<br>N=2754 | Mean ± SD<br>Normal<br>N=2488                                      | Mean ± SD<br>Carcinom<br>folicular<br>N=2488 | Mean ± SD<br>Normal<br>N=2384   | Mean ± SD<br>Carcinom<br>papilar<br>varianta<br>foliculara<br>N=2384 | Mean ± SD<br>Normal<br>N=472   | Mean ± SD<br>Carcinom<br>nediferențiat<br>N=472 |
| <b>Area</b>                    | 12.908 <sup>e</sup><br>±3.279                                    | 24.841 <sup>c</sup><br>±12.061             | 13.035 <sup>e</sup><br>±3.688                                      | 33.524 <sup>b</sup><br>±8.143                | 13.250 <sup>e</sup><br>±3.342   | 52.081 <sup>a</sup><br>±11.147                                       | 12.963 <sup>e</sup><br>±3.153  | 20.018 <sup>d</sup><br>±9.474                   |
| <b>Perimeter</b>               | 13.440 <sup>e</sup><br>±1.693                                    | 18.097 <sup>c</sup><br>±3.981              | 13.560 <sup>e</sup><br>±1.873                                      | 21.68 <sup>b</sup><br>±2.616                 | 13.562 <sup>e</sup><br>±1.695   | 26.665 <sup>a</sup><br>±2.92   | 13.425 <sup>e</sup><br>±1.635  | 17.177 <sup>d</sup><br>±4.338                   |
| <b>Roundness</b>               | 0.887 <sup>b</sup><br>±0.062                                     | 0.911 <sup>a</sup><br>±0.054               | 0.877 <sup>b</sup><br>±0.073                                       | 0.885 <sup>b</sup><br>±0.066                 | 0.894 <sup>b</sup><br>±0.060  | 0.914 <sup>a</sup><br>±0.085   | 0.893 <sup>b</sup><br>±0.059   | 0.815 <sup>c</sup><br>±0.131                    |
| <b>Avg. Intensity</b>          | 0.420 <sup>d</sup><br>±0.048                                     | 0.560 <sup>c</sup><br>±0.081               | 0.421 <sup>d</sup><br>±0.050                                       | 0.633 <sup>b</sup><br>±0.058                 | 0.423 <sup>d</sup><br>±0.048  | 0.691 <sup>a</sup><br>±0.072   | 0.421 <sup>d</sup><br>±0.048   | 0.387 <sup>e</sup><br>±0.062                    |
| <b>Intensity, Red – Avg</b>    | 0.375 <sup>d</sup><br>±0.050                                     | 0.650 <sup>c</sup><br>±0.096               | 0.375 <sup>d</sup><br>±0.053                                       | 0.746 <sup>b</sup><br>±0.054                 | 0.378 <sup>d</sup><br>±0.051  | 0.816 <sup>a</sup><br>±0.072   | 0.376 <sup>d</sup><br>±0.050   | 0.373 <sup>d</sup><br>±0.069                    |
| <b>Intensity, Green - Avg.</b> | 0.366 <sup>b</sup><br>±0.058                                     | 0.336 <sup>c</sup><br>±0.081               | 0.366 <sup>b</sup><br>±0.060                                       | 0.394 <sup>a</sup><br>±0.071                 | 0.369 <sup>b</sup><br>±0.058  | 0.872 <sup>a</sup><br>±0.059   | 0.367 <sup>b</sup><br>±0.059   | 0.349 <sup>bc</sup><br>±0.064                   |
| <b>Intensity Blue - Avg.</b>   | 0.520 <sup>d</sup><br>±0.044                                     | 0.694 <sup>c</sup><br>±0.090               | 0.521 <sup>d</sup><br>±0.044                                       | 0.757 <sup>b</sup><br>±0.058                 | 0.522 <sup>d</sup><br>±0.043  | 0.872 <sup>a</sup><br>±0.059   | 0.521 <sup>d</sup><br>±0.043   | 0.438 <sup>e</sup><br>±0.062                    |
| <b>Hue</b>                     | 242.17 <sup>d</sup><br>±7.98                                     | 293.150 <sup>b</sup><br>±5.070             | 242.54 <sup>d</sup><br>±7.810                                      | 298.50 <sup>a</sup><br>±2.74                 | 242.71 <sup>d</sup><br>±8.09  | 293.83 <sup>b</sup><br>±2.45   | 242.39 <sup>d</sup><br>±8.39   | 258.09 <sup>c</sup><br>±20.12                   |

Tabelul anterior prezintă o prezentare sinoptică a caracteristicilor morfometrice a cazurilor analizate.

Testul two-way mixed ANOVA a fost aplicat pentru a compara valorile medii ale parametrilor morfometrici ale grupului de celule normale și grupul de adenoame foliculare (AF), grupului de celule normale și grupul de carcinom folicular (CF), grupului de celule normale și grupul de carcinom papilar de tip folicular (CPVF) și grupului de celule normale și grupul de carcinom nediferențiat.

Tabelul 3 prezintă rezultatele analizei post hoc Bonferroni a parametrilor morfometriei nucleare. Diferențele statistic semnificative între grupuri sunt indicate prin litere diferite ( $p < 0,05$ ). Pentru a fi mai ușor de comparat au fost utilizate litere subscript, și pentru a fi vizualizate mai bine diferențele semnificative dintre grupurile analizate.

Datele morfometrice nucleare obținute, au fost notate cu literele subscript „a”, „b”, „c”, „d” în ordine descrescătoare a valorilor obținute. Se observă cele mai mari valori obținute notate cu litera subscript „a” în cadrul carcinoamelor papilare, varianta de tip folicular, urmate de carcinomul folicular, notate în tabel cu litera-subscript „b”, urmate de cazurile cu adenoame foliculare, notate cu litera-subscript „c” și de carcinoamele nediferențiate notate cu litera „d”.

În cazurile de carcinoame nediferențiate parametrul morfologic „rotunjimea” a prezentat valori semnificativ crescute, cu o abatere standard de 0,131. Acest parametru definește neregularitatea marcată a membranei nucleare, găsită în cazul celulelor tumorale nediferențiate. În cadrul software-ului Digimizer, parametrul morfologic al „rotunjimii” definește o valoare cuprinsă între 1 și 0, valorile cel mai apropiate de 1, fiind cele mai regulate, un cerc perfect rotund având o valoare egală cu 1.

Tot în cadrul programului Digimizer s-a calculat intensitatea medie a luminozității nucleare, considerând o zonă complet albă având o intensitate a luminozității egală cu 1, în timp ce o zonă complet neagră are o valoare a intensității egală cu 0.

În software-ul Digimizer, parametrul măsurat, "Hue" este o măsură a culorii unei imagini. Hue este determinat de frecvența lungimii de undă a luminii măsurată pentru fiecare nucleu supus examinării. Parametrul "Hue" este exprimat printr-un număr cuprins între 0 și 360 de grade, unde 0 reprezintă roșu, 120 reprezintă verde și 240 reprezintă albastru.

În urma măsurătorilor valorile Hue au fost mai mari în celulele tumorale benigne și maligne comparativ cu celulele normale, nucleii tumorali fiind mai apropiați de valoarea lungimii de undă albastră din spectrul vizibil.

Rezultatele testelor t pereche pentru parametrii morfologici nucleari au comparat grupul de celule normale cu grupul cu celule benigne, și grupul cu celule normale cu grupul cu celule maligne. Diferențele statistice semnificativ între grupuri au fost identificate în baza mediilor obținute, având un  $p < 0,05$ .

Grupul cu neoplazii de tip adenom folicular a prezentat valori medii semnificativ mai mari ale parametrilor nucleari față de grupul cu tireocite considerate normale.

Grupul cu carcinoame foliculare a prezentat parametrii nucleari cu valori mai mari față de celulele normale și față de grupul cu adenoame foliculare.

Grupul cu carcinoame foliculare varianta foliculară a prezentat cele mai mari valori ale parametrilor nucleari ce definesc mărimea nucleară.

Carcinoamele papilare cu forme agresive au prezentat valori semnificativ mai înalte ale parametrilor nucleari de mărime față de grupul cu tireocite normale, precum și față de adenoamele tiroidiene.

În cazul carcinoamelor nediferențiate parametrii nucleari morfologice ce caracterizează mărimea au fost și ei ușor crescuți față de normal. În aceste cazuri de carcinoame nediferențiate se remarcă parametrul Roundness (rotunjimea), care este semnificativ crescut, arătând gradul crescut de iregularitate al membranei nucleare.

Dintre cei mai fiabili parametri analizați s-au remarcat: aria nucleară, perimetrul nuclear precum și gradul de neregularitate și rotunjime a membranei nucleare.

Prezentul studiu s-a axat predominant pe cazurile cu arhitectură foliculară, deoarece tumorile foliculare cauzează cel mai frecvent probleme de diagnostic diferențial în cazurile de patologie tiroidiană.

Prezentul studiu a arătat modificări semnificative în special pe parametrii de tip arie, perimetru și rotunjime, în timp ce parametrii cu privire la intensitățile luminoase de tip roșu, verde, albastru și parametrul hue nu au adus date concludente.

Cele mai înalte valori la parametrii morfometrici de tipul arie și perimetru s-au întâlnit în carcinomul tiroidian papilar, varianta foliculară.

În cazul nucleilor din carcinoamele tiroidiene nediferențiate s-au întâlnit cele mai înalte valori în ceea ce privește parametrii gradului de neregularitate și rotunjime a membranei nucleare.

Analiza de imagine asistată pe calculator poate varia de la nivelul unui program de bază, simplu ce necesită intervenția unei persoane, până la aplicații complexe care implică inteligența artificială. Stadiul actual de dezvoltare al resurselor software permit integrarea și procesarea imaginilor histopatologice cu efectuarea automată a măsurătorilor. Aceasta acționează ca un sistem expert, dând posibilitatea interogării automate a unei baze complexe de date, ce facilitează activitatea de morfopatologie.

Trecerea în revistă a literaturii de specialitate relevă faptul că autorii nu oferă decât rareori detalii și date concrete referitoare la modul în care s-au realizat aplicațiile software cu care s-au realizat măsurătorile automatizate morfometrice.

În studiul nostru cazurile din grupul cu leziuni maligne (carcinoamele foliculare, carcinoamele papilare - varianta foliculară, carcinoamele papilare - varianta cu scleroză difuză, precum și carcinoamele nediferențiate) au avut valori semnificativ crescute ale parametrilor morfometrici nucleari față de grupul cu leziuni benigne reprezentat de adenoamele foliculare. Cele mai ridicate valori s-au întâlnit în cazul carcinomului papilar varianta foliculară. Carcinoamele nediferențiate au avut în plus și o valoare mai ridicată a parametrului ce măsoară gradul de iregularitate al membranei nucleare.

## Contribuții personale

În cadrul studiului I, redactat în capitolul 6 am prezentat incidența carcinomului tiroidian găsită în urma efectuării a unui număr de 526 de autopsii, 1-a care s-au recoltat glandele tiroide obținute pentru analizarea histopatologică. S-au identificat un număr de 51 de cazuri care au fost pozitive pentru carcinomul tiroidian papilar latent.

Prevalența carcinomului papilar tiroidian a fost de 9,69 % fiind cuprinsă în intervalul raportat de literatura de specialitate în studii fiind cuprins între 1,0% și 35,6. Comparând valorile prevalenței întâlnite în acest studiu cu prevalențele găsite în alte studii realizate pe serii de autopsii este dificil de integrat deoarece studiile de cercetare au folosit diferite metode de examinare, precum: varietate mare a intervalelor de secționare pe specișenele de țesut tiroidian, folosind pași diferiți, variind de la 4 $\mu$ m până la 4mm, analizarea criteriilor diagnostice diverse de includere în loturile de studiu și în selecția specișenelor. În particular unele din metodele de examinare folosite pot avea o metoda mai precisă în observarea prevalenței carcinomului și pot duce la o creștere marcată în detecția carcinoamelor tiroidiene papilare.

Nodulii tiroidieni au fost întâlniți într-o proporție de aproximativ 40% la nivelul glandei tiroide, în cea mai mare parte fiind însă benigni, o proporție de aproximativ 10% dintre nodulii solitari descoperiți au avut caractere de malignitate. Nodulii detectați în gușile polinodulare au fost în marea majoritate de aspect coloid și risc scăzut de malignitate. În cazurile detectate cu tumori tiroidiene cel mai frecvent întâlnite au fost carcinoamele papilare, iar dintre acestea subtipul histologic cel mai des întâlnit a fost microcarcinomul de tip papilar. S-a observat că microcarcinomul papilar este o constatare incidentală, extrem de frecventă, cu aspect sclero-fibrotic pledând astfel pentru o dezvoltare în marea majoritate cazurilor indolentă, latentă, de lungă durată.

Populația adultă generală pare a fi expusă uniform la factorii implicați în apariția și dezvoltarea carcinomului tiroidian papilar. În studiul nostru distribuția urban/rurală întâlnită la pacienții cu neoplazii tiroidiene a fost aproximativ egală, literatura de specialitate raportând o incidență crescută a bolilor tiroidiene întâlnită la locuitorii marilor orașe. Riscul de malignitate s-a corelat cu vârsta, majoritatea nodulilor maligni, fiind prezenți după 60 de ani, cei benigni fiind detectați, mai frecvent între 30-50 de ani.

În lucrarea prezentă asocierea cancerului tiroidian la pacienți cu boală tiroidiană preexistentă sau cu alte boli de tipul celor cardio-vasculare, autoimune, precum și la cei cu exces ponderal nu a arătat o corelație directă.

Dintre carcinoamele tiroidiene papilare cel mai des întâlnit subtip histologic de carcinom papilar tiroidian a fost varianta foliculară de carcinom papilar, găsită în mai mult de 25% din cazuri, procent aflat în concordanță cu literatura de specialitate. Diagnosticul în aceste cazuri s-a putut stabili cu ușurință pe baza trăsăturilor specifice ale nucleilor, care au fost optic clari, cu aspect de „geam mat”.

Diagnosticarea histopatologică a carcinoamelor neîncapsulate rămâne una din patologiile tiroidiene chirurgicale cele mai controversate. Diagnosticarea corectă în aceste cazuri a fost foarte importantă deoarece aceste tumori pot avea potențial metastazant limfatic și la distanță. De asemenea s-a avut în vedere faptul că interpretarea unui adenom folicular ca fiind carcinom folicular poate expune pacientul la intervenții chirurgicale agresive nefolositoare.

În practica curentă, multe situații confuzionale pot apărea în leziunile de tip folicular cu trăsături citologice atipice. Acestea pot fi întâlnite în leziunile benigne, de tipul adenomatozei hiperplazice sau adenoamelor foliculare. Adesea supradiagnosticate aceste leziuni pot fi supuse la intervenții agresive chirurgicale și tratate cu iod radioactiv.

În cadrul capitolului 7, din cadrul studiului II am examinat frotiurile obținute prin citopuncția aspirativă cu ac fin de la nivelul glandei tiroidiene care au fost corelate cu examinările histopatologice, cu scopul de a identifica cât mai precis variantele carcinomului papilar cunoscute ca având un comportament biologic agresiv. Puncția aspirativă urmată de examinarea citologică s-a dovedit a fi un instrument util folosit în evaluarea tumorilor tiroidiene, fără însă a putea înlocui diagnosticarea de certitudine histopatologică. Acest lucru a permis aplicarea unui tratament precoce cu o rată semnificativă de îmbunătățire în ceea ce privește rata de vindecare și prognosticul neoplaziilor tiroidiene.

Recunoașterea variantelor agresive de carcinom papilar a avut importanță majoră în prognosticul și managementul clinic al pacienților.

Asocierea morfometriei în cadrul frotiurilor histologice pentru leziunile foliculare suspecte de malignitate duce la creșterea acuității în stabilirii diagnosticelor suspecte de malignitate pentru leziunile foliculare.

În studiul III, din capitolul 8 morfometria nucleară a oferit un punct de vedere imparțial care poate fi considerat de un real folos în diferențierea cazurilor cu leziuni borderline aflate la limita dintre malignitate și benignitate, metoda fiind însă limitată deoarece se bazează doar pe corelații obținute prin studii statistice.

Am folosit în studiul morfometric o metodă semi-automată pentru a elimina eventuale erori ce ar fi putut apărea artefactual, prin tehnicile de prelucrare, deoarece

imaginile histologice sunt complexe iar de multe ori delimitarea precisă a marginilor nucleare poate fi ușor complicată cu intensitatea luminoasă a citoplasmei. Astfel marginile nucleilor s-au conturat cu grijă și atenție sporită manual. Datele obținute sunt în concordanță cu unele studii din literatura de specialitate și confirmă valoarea acurateții în morfometria nucleare.

Această tehnică elaborată ar putea fi recomandată în particular cazurilor controversate clinic la pacienții cu metabolism dezechilibrat care pot dezvolta complicații postchirurgicale.

Parametrii morfometrici mășurați ce caracterizează leziunile benigne și maligne în cadrul frotiurilor evaluate în acest studiu se încadrează în datele din literatura de specialitate.

Morfometria computerizată se dovedește a fi un instrument util ce poate fi implementat în managementul anatomopatologic al investigațiilor glandei tiroide datorită simplității de execuție, siguranței precum și a rentabilității cost-eficiență. Poate influența pozitiv precizia diagnostică, permițând o mai bună corelație cu datele clinice și imagistice.

## **Concluzii**

În pofida creșterii incidenței bolilor tiroidiene, mortalitatea prin cancer tiroidian a avut o tendință descrescătoare în ultimele decenii datorită unui proces mai bun de stabilire a diagnosticului și a unei strategii mai bune de tratament tiroidian preconizat asupra dezvoltării cunoașterii în domeniu.

Carcinoamele tiroidiene sunt un grup compact cu o expresie morfo-fenotipică și imuno-biologică heterogenă, care sunt uneori trecute cu vederea, în special tumorile de dimensiuni mici, cum ar fi microcarcinoamele papilare. Majoritatea acestor carcinoame sunt identificate întâmplător în timpul unui control de rutină sau la autopsie.

Studiul detaliat al glandei tiroide recoltate în timpul efectuării autopsiilor, așa cum s-a realizat în lucrarea doctorală a arătat că o tiroidă, aparent normală la examinarea macroscopică, uneori poate fi sediul unor manifestări patologice sau tumorale. Creșterea incidenței microcarcinoamelor papilare creează adesea dileme în ceea ce privește aplicarea unui management terapeutic adecvat, uneori tergiversarea aplicării intervențiilor chirurgicale, putând fi urmată de o evoluție mai agresivă.

În cazurile complexe și dificile, caracteristicile citomorfologice, corelate cu datele clinice, markerii imunohistochimici și cu profilul molecular pot duce la elucidarea rapidă a diagnosticelor .



Studiul subliniază importanța examinării glandei tiroide în serii de autopsii precum și importanța includerii în viitoarele autopsii a markerilor moleculari și metabolici.

Morfometria computerizată se poate considera a fi un instrument util, ce poate fi implementat în managementul anatomopatologic al investigațiilor glandei tiroide datorită simplității de execuție, siguranței precum și a rentabilității în ceea ce privește raportul cost-eficiență. Rezultatele obținute pot influența pozitiv precizia diagnostică, permițând o mai bună corelație cu datele clinice și imagistice.

Tehnica elaborată a morfometriei nucleare s-ar putea efectua pe serii de tumori tiroidiene și în particular s-ar putea aplica cazurilor controversate clinic, la pacienții cu metabolism dezechilibrat pentru a nu fi supuși unor intervenții chirurgicale laborioase care i-ar dezechilibra prin dezvoltarea de complicații postchirurgicale.

Aplicarea ulterioară a unor studii mai aprofundate, pe loturi mai mari de pacienți, ar deschide noi orizonturi în ceea ce privește aplicarea evaluării cantitative în patologia leziunilor tiroidiene, în mod special pentru cazurile cu evoluție agresivă și grad dificil de diagnosticare.

În concluzie există o mare prevalență a nodulilor tiroidieni detectați în populația generală ce pot ascunde adesea carcinoame tiroidiene oculte și de aceea considerăm necesar crearea de programe de screening pentru detectarea precoce a patologiei tiroidiene.

### **Caracterul de noutate/originalitatea**

Identificarea unor corelații clinice, histologice și imunohistochimice în subtipurile histologice ale carcinoamelor tiroidiene detectate incidental în cadrul autopsiilor seriate.

Morfometria nucleară a oferit un punct de vedere imparțial, având scopul de a efectua o mai mare precizie în diagnosticare, fiind de un real folos, în special în diferențierea cazurilor aflate la limita dintre malignitate și benignitate, cu leziuni greu de interpretat, iar datele obținute au fost în concordanță cu cele obținute de alte studii de cercetare din literatura de specialitate.

## Bibliografie selectivă

- [1] A. D. Stephanus *et al.*, “Subclinical Hypothyroidism is Not Associated with Femoral Osteoporosis in Individuals Aged 50 Years or Older,” *J. Clin. Densitom.*, vol. 26, no. 2, p. 101362, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jocd.2023.03.001>.
- [2] C. C. P. S. Janovsky, M. S. Bittencourt, M. A. P. de Novais, R. M. B. Maciel, R. P. M. Biscolla, and P. Zucchi, “Thyroid cancer burden and economic impact on the Brazilian public health system,” *Arch. Endocrinol. Metab.*, vol. 62, no. 5, pp. 537–544, 2018, doi: 10.20945/2359-3997000000074.
- [3] M. A. Razavi *et al.*, “Nuclear morphometry in indeterminate thyroid nodules,” *Gland Surgery; Vol 9, No 2 (April 2020) Gland Surg.*, 2020, [Online]. Available: <https://gs.amegroups.com/article/view/36714>
- [4] K. Kaliszewski, A. Zubkiewicz-Kucharska, P. Kielb, J. Maksymowicz, A. Krawczyk, and O. Krawiec, “Comparison of the prevalence of incidental and non-incidental papillary thyroid microcarcinoma during 2008-2016: A single-center experience,” *World Journal of Surgical Oncology*, Oct. 10, 2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30305094/> (accessed May 21, 2020).
- [5] N. Slijepcevic, V. Zivaljevic, J. Marinkovic, S. Sipetic, A. Diklic, and I. Paunovic, “Retrospective evaluation of the incidental finding of 403 papillary thyroid microcarcinomas in 2466 patients undergoing thyroid surgery for presumed benign thyroid disease,” *BMC Cancer*, vol. 15, no. 1, pp. 1–8, 2015, doi: 10.1186/s12885-015-1352-4.
- [6] P. Khatri, M. Choudhury, M. Jain, and S. Thomas, “Role of morphometry in the cytological differentiation of benign and malignant thyroid lesions,” *J. Cytol.*, vol. 34, no. 1, pp. 1–4, 2017, doi: 10.4103/0970-9371.197579.
- [7] E. D. Rossi, W. C. Faquin, and L. Pantanowitz, “Cytologic features of aggressive variants of follicular-derived thyroid carcinoma,” *Cancer Cytopathol.*, vol. 127, no. 7, pp. 432–446, 2019, doi: 10.1002/cncy.22136.
- [8] R. Miftari, V. Topçiu, A. Nura, and V. Haxhibeqiri, “Management of the Patient with Aggressive and Resistant Papillary Thyroid Carcinoma.,” *Med. Arch. (Sarajevo, Bosnia Herzegovina)*, vol. 70, no. 4, pp. 314–317, Jul. 2016, doi: 10.5455/medarh.2016.70.314-317.
- [9] D. Ciobanu, I. D. Căruntu, C. Vulpoi, N. Florea, and S. E. Giușcă, “Morphometric parameters and silver stain used in diagnosis of thyroid follicular diseases.,” *Rom.*

- J. Morphol. Embryol. = Rev. Roum. Morphol. Embryol.*, vol. 47, no. 4, pp. 323–330, 2006.
- [10] K. Y. Lam, A. Sakamoto, R. A. DeLellis, R. V Lloyd, P. U. Heitz, and C. Eng, “Squamous cell carcinoma,” *World Heal. Organ. Classif. Tumours Pathol. Genet. – Tumours Endocr. Organs*, 2004.
- [11] A. Pezzolla *et al.*, “[Incidental carcinoma in thyroid pathology: our experience and review of the literature].,” *Ann. Ital. Chir.*, vol. 81, no. 3, pp. 165–9, Accessed: May 21, 2020. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21105480>
- [12] S.-I. Murata *et al.*, “Morphological abstraction of thyroid tumor cell nuclei using morphometry with factor analysis.,” *Microsc. Res. Tech.*, vol. 61, no. 5, pp. 457–462, Aug. 2003, doi: 10.1002/jemt.10355.
- [13] T. W. (Thomas W. . Sadler and J. Langman, *Langman’s medical embryology*, 10th ed. /. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- [14] A. Angela Borda, Nicole Berger, Myriam Decaussin-Petrucci, Alexandra Glehen and F. R. Loghin, Cosmin Moldovan, Ionela Pașcanu, “Ghid de diagnostic în patologia endocrină.,” *Ed. Univ. Press. Tîrgu Mureș*, 326 p, ISBN 978-973-169-087-2, cod CNCISIS 210., 2009.
- [15] N. Neuhold, H. Kaiser, and K. Kaserer, “Latent carcinoma of the thyroid in Austria: a systematic autopsy study.,” *Endocr. Pathol.*, vol. 12, no. 1, pp. 23–31, 2001, doi: 10.1385/ep:12:1:23.
- [16] S. Koyama *et al.*, “Immunohistochemical Features of Primary Pure Squamous Cell Carcinoma in the Thyroid: An Autopsy Case.,” *Case reports in oncology*, vol. 11, no. 2. Switzerland, pp. 418–424, 2018. doi: 10.1159/000490410.
- [17] A. Miyauchi, Y. Ito, and H. Oda, *Insights into the Management of Papillary Microcarcinoma of the Thyroid*, vol. 28, no. 1. NLM (Medline), 2018, pp. 23–31. doi: 10.1089/thy.2017.0227.
- [18] H. R. Harach, K. O. Franssila, and V. M. Wasenius, “Occult papillary carcinoma of the thyroid. A ‘normal’ finding in Finland. A systematic autopsy study.,” *Cancer*, vol. 56, no. 3, pp. 531–538, Aug. 1985, doi: 10.1002/1097-0142(19850801)56:3<531::aid-cnrcr2820560321>3.0.co;2-3.
- [19] S.-S. Kweon, M.-H. Shin, I.-J. Chung, Y.-J. Kim, and J.-S. Choi, “Thyroid cancer is the most common cancer in women, based on the data from population-based cancer registries, South Korea.,” *Jpn. J. Clin. Oncol.*, vol. 43, no. 10, pp. 1039–1046, Oct. 2013, doi: 10.1093/jjco/hyt102.

- [20] T.-J. Lee, S. Kim, H.-J. Cho, and J.-H. Lee, “The incidence of thyroid cancer is affected by the characteristics of a healthcare system.,” *J. Korean Med. Sci.*, vol. 27, no. 12, pp. 1491–1498, Dec. 2012, doi: 10.3346/jkms.2012.27.12.1491.
- [21] N. C. C. Network, “National Comprehensive Care Network Guidelines for Thyroid Cancer, 2013.” 2014.
- [22] M. K. Malone, J. Zagzag, J. B. Ogilvie, K. N. Patel, and K. S. Heller, “Thyroid cancers detected by imaging are not necessarily small or early stage.,” *Thyroid*, vol. 24, no. 2, pp. 314–318, Feb. 2014, doi: 10.1089/thy.2012.0651.
- [23] F. Yoo, I. Chaikhoutdinov, R. Mitzner, J. Liao, and D. Goldenberg, “Characteristics of incidentally discovered thyroid cancer.,” *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.*, vol. 139, no. 11, pp. 1181–1186, Nov. 2013, doi: 10.1001/jamaoto.2013.5050.
- [24] L. Enewold *et al.*, “Rising thyroid cancer incidence in the United States by demographic and tumor characteristics, 1980-2005.,” *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. a Publ. Am. Assoc. Cancer Res. cosponsored by Am. Soc. Prev. Oncol.*, vol. 18, no. 3, pp. 784–791, Mar. 2009, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0960.
- [25] S. Y. Park *et al.*, “Identification of occult tumors by whole-specimen mapping in solitary papillary thyroid carcinoma,” *Endocr. Relat. Cancer*, vol. 22, no. 4, pp. 679–686, 2015, doi: 10.1530/ERC-15-0152.
- [26] Y. S. Lee, H. Lim, H. S. Chang, and C. S. Park, “Papillary thyroid microcarcinomas are different from latent papillary thyroid carcinomas at autopsy,” *Journal of Korean Medical Science*, vol. 29, no. 5, pp. 676–679, 2014. doi: 10.3346/jkms.2014.29.5.676.
- [27] S. J. Schonfeld, C. Lee, and A. Berrington de González, “Medical exposure to radiation and thyroid cancer.,” *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*, vol. 23, no. 4, pp. 244–250, May 2011, doi: 10.1016/j.clon.2011.01.159.
- [28] D. J. Brenner and E. J. Hall, “Computed tomography--an increasing source of radiation exposure.,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 357, no. 22, pp. 2277–2284, Nov. 2007, doi: 10.1056/NEJMra072149.