



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA“ DIN BUCUREȘTI**



Str. Dionisie Lupu 37, sector 2, București, 020021, România, www.umfcd.ro, email: rectorat@umfcd.ro

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

**TEZĂ DE DOCTORAT  
REZUMAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. COSTACHE MARIANA**

**Student-doctorand:**

**ȚĂPOI DANA-ANTONIA**

**2024**

**Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București**  
Strada Dionisie Lupu, nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal: 4192910  
Cont: RO57TREZ70220F330500XXX, Banca: TREZORERIE sect. 2  
+40.21.318.0719; +40.21.318.0721; +40.21.318.0722  
www.umfcd.ro



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA“ DIN BUCUREȘTI**



Str. Dionisie Lupu 37, sector 2, București, 020021, România, www.umfed.ro, email: rectorat@umfed.ro

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

**EVALUAREA AGRESIVITĂȚII MELANOAMELOR  
CUTANATE STADIALIZATE pT3 ȘI pT4 PRIN METODE  
HISTOPATOLOGICE ȘI IMUNOHISTOCHIMICE  
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. COSTACHE MARIANA**

**Student-doctorand:**

**ȚĂPOI DANA-ANTONIA**

**Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București**  
Strada Dionisie Lupu, nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal: 4192910  
Cont: RO57TREZ70220F330500XXX, Banca: TREZORERIE sect. 2  
+40.21.318.0719; +40.21.318.0721; +40.21.318.0722  
www.umfed.ro

## CUPRINS

Lista lucrărilor științifice publicate.....	4
Lista cu simboluri și abrevieri.....	6
Introducere.....	8
I. Partea generală.....	11
1. Generalități.....	12
1.1. Anatomia, embriologia și histologia pielii.....	12
1.2. Istoricul și epidemiologia melanoamelor cutanate.....	14
1.3. Patogeneza melanoamelor cutanate.....	16
2. Diagnosticul și tratamentul melanoamelor cutanate.....	20
2.1. Diagnosticul histopatologic al melanoamelor cutanate.....	20
2.2. Stadializarea histopatologică a melanoamelor cutanate.....	24
2.3. Factori histopatologici de prognostic pentru melanoamele cutanate.....	28
2.4. Profilul imunohistochimic al melanoamelor cutanate.....	30
2.5. Tratamentul melanoamelor cutanate.....	33
II. CONTRIBUȚII PERSONALE.....	35
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	36
4. Metodologia generală a cercetării.....	38
4.1. Examenul macroscopic.....	38
4.2. Obținerea preparatului microscopic permanent.....	39
4.3. Tehnica imunohistochimică.....	39
4.4. Examinarea în microscopia optică.....	41
4.5. Constituirea bazei de date și analiza statistică.....	41
5. Studiul valorii prognostice a factorilor clinico-patologici în cazul melanoamelor cutanate în stadiul pT4.....	44
5.1. Introducere.....	44
5.2. Pacienți și metode.....	46
5.3. Rezultate.....	47
5.4. Discuții.....	72

<b>6. Studiul valorii prognostice a lăţimii invaziei în cazul melanoamelor cutanate în stadiul pT3.....</b>	<b>78</b>
<b>6.1. Introducere.....</b>	<b>78</b>
<b>6.2. Pacienţi şi metode.....</b>	<b>80</b>
<b>6.3. Rezultate.....</b>	<b>81</b>
<b>6.4. Discuţii.....</b>	<b>102</b>
<b>7. Studiul valorii prognostice a activităţii proliferative în cazul melanoamelor cutanate în stadiul pT3 şi pT4.....</b>	<b>107</b>
<b>7.1. Introducere.....</b>	<b>107</b>
<b>7.2. Pacienţi şi metode.....</b>	<b>107</b>
<b>7.3. Rezultate.....</b>	<b>109</b>
<b>7.4. Discuţii.....</b>	<b>123</b>
<b>8. Concluzii şi contribuţii personale.....</b>	<b>126</b>
<b>8.1. Concluzii.....</b>	<b>126</b>
<b>8.2. Contribuţii personale.....</b>	<b>129</b>
<b>Bibliografie.....</b>	<b>131</b>

## Introducere

Melanoamele cutanate reprezintă aproximativ 4% dintre toate tipurile de cancer de piele. Cu toate acestea, morbiditatea și mortalitatea asociate melanoamelor cutanate, mai ales în cazurile local avansate, depășesc toate celelalte tumori de piele [1]. În acest context, cea mai crescută rată de mortalitate este înregistrată în rândul pacienților cu melanoame profund invazive, diagnosticate în stadiile pT3 și pT4 conform ghidurilor emise de American Joint Committee on Cancer (AJCC) [2, 3]. Totuși, chiar și aceste subgrupuri de pacienți prezintă adeseori evoluții greu predictibile. Din aceste motive, este justificată cercetarea amănunțită a factorilor de prognostic, pentru a îmbunătăți identificarea pacienților cu risc înalt de progresie a bolii, astfel încât aceștia să beneficieze de cele mai bune opțiuni de monitorizare și tratament.

Factorii de prognostic pentru melanoame cutanate pot fi împărțiți în clinici, histopatologici și imunohistochimici, dar valoarea lor predictivă este uneori incertă, mai ales în cazul melanoamelor stadializate pT3 sau pT4. Dintre factorii clinici, amintim genul și vârsta pacienților, precum și localizarea tumorii primare. În ceea ce privește primele două caracteristici, anumite studii au demonstrat că genul masculin și vârsta înaintată la momentul diagnosticului sunt factori de prognostic nefavorabil [4, 5, 6], dar există, de asemenea și cercetări care infirmă aceste asocieri [7, 8]. În mod similar, localizarea tumorii primare este un parametru cu valoare prognostică discutabilă, în sensul că, în funcție de autor, localizarea la nivelul nivelului tegumentului acral cât și la nivelul capului și al gâtului a fost asociată cu un prognostic negativ [6, 9], existând și studii care infirmă valoarea predictivă a localizării tumorii primare [10].

Factorii histopatologici considerați a avea valoare prognostică conform AJCC sunt: tipul histopatologic de melanom, ulcerația epidermului, profunzimea invaziei măsurată în milimetri (indicele Breslow), nivelul de invazie Clark, numărul de mitoze/mm<sup>2</sup>, prezența microsateleliților tumorali, a invaziei limfo-vasculare și perineurale, tipul de infiltrat inflamator asociat tumorii și starea marginilor de rezecție [2]. Cu toate acestea, melanoamele profund invazive prezintă frecvent evoluții impredictibile, astfel încât valoarea prognostică a factorilor amintiți anterior poate fi semnificativ mai scăzută. În acest sens, menționăm în primul rând faptul că în cazul tumorilor diagnosticate în stadiul pT4 valorile indicelui Breslow care depășesc 4 mm continuă să își păstreze semnificația prognostică până la un anumit prag dincolo de care anumiți autori au demonstrat că profunzimea invaziei nu mai influențează evoluția pacienților

[11, 12, 13]. În privința acestei valori prag, raportările variază în funcție de studiu, indicele Breslow pierzând semnificația prognostică când depășește 10 mm sau 15 mm [14, 15].

În afară de indicele Breslow, prezența sau absența ulcerăției epidermului este a doua caracteristică folosită pentru stadializarea tumorii primare conform ghidurilor AJCC [2]. Totuși, numeroase studii au demonstrat că majoritatea melanoamelor cutanate profund invazive asociază și ulcerăția epidermului, astfel încât valoarea prognostică a acestui parametru este limitată în asemenea cazuri [11, 16-23].

În contextul melanoamelor cutanate profund invazive, au fost raportate rezultate frecvent cotradictorii și pentru ceilalți parametri histopatologici considerați a fi de referință pentru estimarea prognosticului melanoamelor cutanate în ansamblu [11, 18, 24].

Din cauza valorilor predictive scăzute ale parametrilor histopatologici convenționali, este necesară identificarea unor noi factori de prognostic pentru melanoamele profund invazive. În acest sens, amintim invazia perineurală și necroza tumorală, fenomene foarte puțin studiate în astfel de tumori. Rezultatele obținute până în prezent sunt însă semnificative, invazia perineurală și necroza tumorală fiind asociate cu scăderea supraviețuirii [25, 26].

Un nou parametru cu un potențial prognostic promițător pentru melanoamele cutanate este lățimea maximă a tumorii. Acest parametru poate fi evaluat atât microscopic conform metodei descrise de Saldamha G. et al [27] cât și macroscopic [28]. Cu toate, acestea, studiile privind lățimea invaziei sunt încă foarte reduse, necesitând noi cercetări pentru a le valida valoarea prognostică.

Nu în ultimul rând, estimarea prognosticului pacienților cu melanoame cutanate ar putea fi îmbunătățită și prin intermediul testelor imunohistochimice. În prezent, aceste analize au în primul rând valoare diagnostică, mai ales în cazul melanoamelor dediferențiate [29]. Dediferențierea, definită ca pierderea expresiei imunohistochimice a markerilor melanocitari uzuali, concomitent cu imunoreactivitatea pentru markeri specifici altor linii celulare, este un fenomen rar în tumorile primare cutanate, dar relativ frecvent întâlnit în leziunile metastactice. În astfel de situații, este necesară o amplă analiză imunohistochimică pentru a putea stabili diagnosticul [30].

Cu toate acestea, anumiți markeri imunohistochimici, precum indicele de proliferare Ki67, ar putea fi utili și pentru evaluarea prognosticului pacienților cu melanoame cutanate. Deși valoarea predictivă a indicelui Ki67 a fost dovedită pentru numeroase malignități diferite, rolul

său în estimarea prognosticului melanoamelor cutanate rămâne incert [31, 32]. Totodată, modul în care trebuie evaluat procentul celulelor tumorale pozitive pentru Ki67 necesită standardizare astfel încât să fie redusă variabilitatea inter-observator, aceasta fiind o posibilă cauză a lipsei de concordanță din literatura de specialitate în ceea ce privește valoarea prognostică a indicelui Ki67 în melanoame cutanate. Nu în ultimul rând, pentru o mai bună estimare a relației dintre expresia acestui marker de proliferare și evoluția pacienților, este necesară și stabilirea unei valori prag standard, deoarece, până în prezent, în funcție de studiu, au fost folosite numeroase valori prag, diferite, ale indicelui Ki67 față de care a fost analizat prognosticul melanoamelor cutanate [31, 33].

### **Ipoteza și obiectivele studiului**

Melanoamele cutanate local avansate, deși asociază o morbiditate și o mortalitate semnificative, prezintă evoluții frecvent impredictibile, ce nu pot fi explicate doar prin prisma factorilor de prognostic convenționali. Plecând de la această ipoteză, sunt necesare noi studii pentru a îmbunătăți identificarea pacienților cu risc înalt de progresie al bolii, astfel încât aceștia să poată beneficia de cele mai potrivite măsuri de monitorizare și tratament.

Scopul principal al acestui demers științific a fost de a stabili noi factori de prognostic ce pot fi cuantificați prin examinarea histopatologică clasică sau prin teste imunohistochimice larg răspândite, astfel încât analiza acestora să fie accesibilă fără a crește semnificativ costul asociat diagnosticului.

Plecând de la dezideratele enunțate anterior, această cercetare doctorală a cuprins trei studii retrospective care au analizat pacienți diagnosticați cu melanoame cutanate în cadrul Laboratorului Clinic de Anatomie Patologică de la Spitalul Universitar de Urgență din București între anii 2012 și 2018. În total, au fost incluși 143 de pacienți care au fost urmăriți timp de cel puțin cinci ani de la momentul diagnosticului inițial sau până au decedat, dacă acest eveniment a survenit mai devreme. În ansamblu, au fost evaluați diferiți factori de prognostic clinici și histopatologici, precum și expresia indicelui de proliferare Ki67 în raport cu evoluția pacienților diagnosticați cu melanoame cutanate local avansate (stadiile pT3 și pT4) după cum urmează:

1. Primul studiu a analizat 94 de pacienți diagnosticați cu melanoame cutanate cu profunzimea invaziei peste 4 mm (stadiul pT4), evaluând valoarea prognostică a mai

- multor factori: demografici, clinici și histopatologici și axându-se în mod special pe stabilirea semnificației predictive a indicelui Breslow când acesta depășește 4 mm;
2. Studiul al doilea a analizat 49 de pacienți diagnosticați cu melanoame cutanate cu profunzimea invaziei cuprinsă între 2 și 4 mm (stadiul pT3). Această analiză a inclus, de asemenea, diferiți factori de prognostic: demografici, clinici și histopatologici, concentrându-se în particular asupra valorii predictive a unui nou parametru – lățimea invaziei, măsurată atât macroscopic cât și microscopic;
  3. Studiul al treilea a cuprins 33 pacienți cu melanoame cutanate diagnosticate în stadiile pT3 și pT4 și a analizat valoarea prognostică a activității proliferative prin prisma indicelui mitotic și a expresiei indicelui de proliferare Ki67.

### **Metodologia generală a cercetării**

Metodologia cercetării științifice a cuprins evaluări imagistice pentru a decela prezența metastazelor, analiza macroscopică a specimenelor excizate chirurgical, obținerea preparatelor microscopice cât și analiza histopatologică și imunohistochimică a fragmentelor de țesut prelevate conform protocoalelor în vigoare, întocmirea bazei de date și analiza statistică a diferitelor variabile în raport cu progresia bolii și decesul pacienților prin intermediul programului GraphPad Prism 10.0 (GraphPad Inc.; San Diego, CA, SUA). Analiza statistică a inclus calcularea mediilor, medianelor, a deviațiilor standard, valorilor minime și maxime, precum și a intervalelor de încredere de 95% (95% confidence interval, 95% CI) pentru variabile de tip continuu. De asemenea, au fost efectuate analize de tip regresie Cox univariată și multivariată calculând (hazard ratio, HR) și intervale de încredere 95%, curbe de supraviețuire Kaplan-Meier, coeficient de concordanță Harrell pentru demonstrarea valorii prognostice a regresiei multivariate și coeficient de corelație Pearson. Rezultatele au fost considerate semnificative din punct de vedere statistic pentru valori ale lui  $p < 0,05$ . Gradul de concordanță între valorile indicelui Ki67 raportate de doi anatomopatologi a fost evaluat prin intermediul analizei Bland-Altman.



## **Studiul 1: Studiul valorii prognostice a factorilor clinico-patologici în cazul melanoamelor cutanate în stadiul pT4**

În cadrul studiului prezentat în capitolul al cincilea, am analizat influența unor factori clinico-patologici asupra intervalului liber de boală și a supraviețuirii pacienților cu melanoame cutanate cu o profunzime a invaziei peste 4 mm. Au fost evaluați parametri demografici precum vârsta și genul pacienților, factori clinici precum localizarea tumorii primare și ulcerarea, dar și parametri histopatologici printre care amintim: subtipul de melanom, indicele Breslow, indicele Clark, numărul de mitoze/mm<sup>2</sup>, invazia limfo-vasculară, invazia perineurală, regresia, microsateleții tumorali, necroza tumorală, distribuția limfocitelor intra-tumorale și distanța minimă dintre marginile de rezecție și formațiunea tumorală.

Începând cu analiza factorilor demografici, am demonstrat că pacienții care au dezvoltat metastaze și cei care au decedat pe parcursul urmăririi au avut, în medie, vârste mai înaintate decât cei fără boală progresivă, dar aceste diferențe nu au fost semnificative din punct de vedere statistic. Pe de altă parte însă, în cadrul acestei cercetări, s-a dovedit că genul feminin este asociat semnificativ cu creșterea intervalului liber de boală (HR=0,49; 95%CI=0,28-0,83; p=0,0103) și a supraviețuirii (HR=0,42; 95%CI=0,23-0,74; p=0,0036) în cadrul analizei Cox univariate.

În continuare, în urma analizei factorilor clinici, nu s-a putut stabili nicio asociere semnificativă statistic între localizarea tumorii primare și intervalul liber de boală sau supraviețuirea pacienților prin modele de analiză univariată. În ceea ce privește ulcerarea epidermului, am demonstrat că această caracteristică a fost prezentă la majoritatea cazurilor din studiu și nu a fost asociată cu intervalul liber de boală sau cu supraviețuirea pacienților.

Din punctul de vedere al parametrilor histopatologici, în cadrul analizelor Cox univariate, intervalul liber de boală crescut a fost asociat semnificativ cu subtipul histopatologic de melanom extensiv în suprafață. Prin intermediul aceleiași analize, s-a arătat că scăderea intervalului liber de boală a fost influențată semnificativ de valorile crescute ale indicele Breslow și ale indicelui mitotic, precum și de prezența necrozei tumorale, a microsatelețiilor și a invaziei perineurale. În același context, nivelul de invazie Clark, tipul de infiltrat inflamator asociat tumorii, invazia limfo-vasculară regresia sau distanța minimă dintre marginile de rezecție și formațiunea tumorală nu au fost asociate semnificativ cu intervalul liber de boală. În

ceea ce privește, supraviețuirea pacienților, aceasta a fost asociată pozitiv cu subtipul histopatologic de melanom extensiv în suprafață și negativ cu indicele Breslow, necroza, microsateleții și invazia perineurală.

În continuare, prin intermediul analizelor Cox multivariate a fost evaluată valoarea predictivă independentă a factorilor asociați semnificativ cu intervalul liber de boală și supraviețuirea pacienților în cadrul modelelor univariate. Astfel, singurii factori asociați independent cu intervalul liber de boală au fost indicele Breslow, necroza, invazia perineurală și microsateleții tumorali (Tabelul V.12).

**Tabel V.12.** Analiza Cox multivariată asupra variabilelor asociate cu intervalul liber de boală.

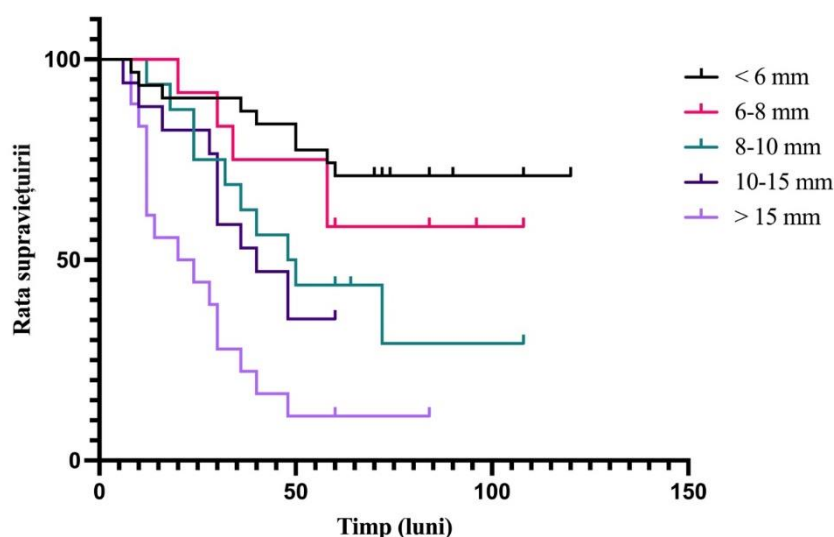
	HR	CI 95%	p
Necroză	2,27	1,21-4,42	0,0126
Microsateleți	2,59	1,33-5,8	0,0069
Invazie perineurală	2,45	1,21-4,93	0,0117
Indice Breslow	1,04	1,005-1,07	0,0205
Gen (feminin)	0,76	0,34-1,42	0,3943
Melanom extensiv în suprafață	0,63	0,23-1,49	0,3249
Indice mitotic	1,02	0,96-1,08	0,4288

În mod similar, singurii factori asociați independent cu supraviețuirea au fost indicele Breslow, necroza, microsateleții și invazia perineurală (Tabelul V.13).

**Tabel V.13.** Analiza Cox multivariată asupra variabilelor asociate cu supraviețuirea pacienților.

	HR	CI 95%	p
Necroză	2,19	1,14-4,34	0,0203
Microsateleți	2,84	1,42-5,5	0,0024
Invazie perineurală	2,19	1,09-4,32	0,0249
Indice Breslow	1,038	1,005-1,07	0,0177
Gen (feminin)	0,61	0,32-1,16	0,1346
Melanom extensiv în suprafață	0,56	0,19-1,33	0,2339

În încheierea acestui studiu, având în vedere că premisa inițială conform căreia indicele Breslow rămâne un factor de prognostic important chiar și în cazul melanoamelor cu profunzimea invaziei peste 4 mm a fost validată, am efectuat o analiză Kaplan-Meier pentru a evidenția relația dintre valorile indicelui Breslow și rata supraviețuirii. Valorile prag ale indicelui Breslow în cadrul acestei analize au fost următoarele: Breslow sub 6 mm; Breslow cuprins între 6-8 mm, Breslow cuprins între 8-10 mm; Breslow cuprins între 10-15 mm și Breslow peste 15 mm (Figura 5.23).



**Fig 5.23.** Curbele de supraviețuire Kaplan-Maier în funcție de valoarea indicelui Breslow.

Din aceste date, se poate remarca o scădere importantă a procentului de supraviețuitori pe măsură ce valoarea indicelui Breslow continuă să crească. Rata deceselor a crescut progresiv de la 29,03% în grupul cu Breslow sub 6 mm, la 41,66% în grupul cu Breslow cuprins între 6-8 mm, la 62,5% în grupul cu Breslow cuprins între 8-10 mm, la 64,7% în grupul cu Breslow cuprins între 10-15 mm și a ajuns la 88,88% în cazul pacienților cu Breslow peste 15 mm. Aceste diferențe au fost avute o semnificație statistică puternică ( $p < 0,0001$ , testul log-rank).

În final, am analizat rata supraviețuirii prin intermediul curbei Kaplan-Meier și în funcție de ceilalți parametri asociați independent cu supraviețuirea pacienților. Astfel, am arătat că pacienții cu invazie perineurală au o rată de supraviețuire semnificativ mai redusă ( $p < 0,0001$ ) decât cei fără invazie perineurală ( $HR=5,323$ ;  $95\%CI=2,55-11,1$ ). În mod similar prezența necrozei tumorale este puternic asociată cu scăderea ratei de supraviețuire ( $HR=3,218$ ;  $95\%CI=1,572-6,588$ ;  $p < 0,0001$ ). Ultimul parametru pe care l-am evaluat prin intermediul

analizei Kaplan-Meier a fost prezența microsateliților tumorali. De asemenea, prezența microsateliților tumorali este puternic asociată (HR=3,538; 95%CI=2,023-6,19; p=0,0001).

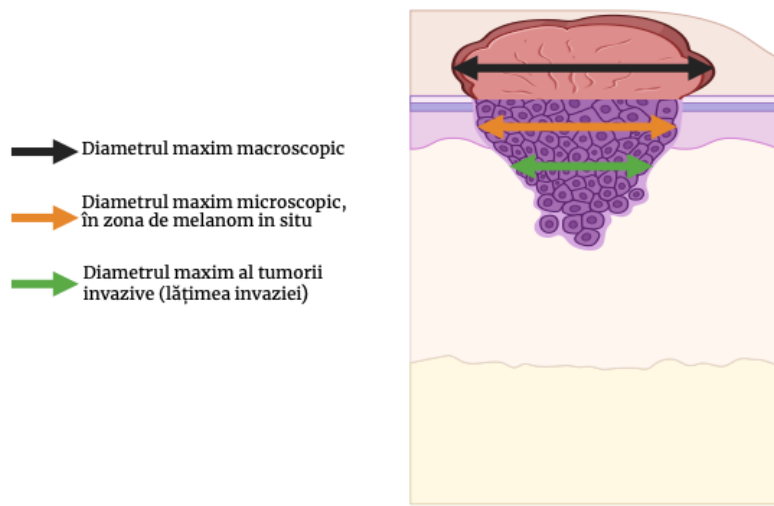
## **Studiul 2: Studiul valorii prognostice a lățimii invaziei în cazul melanoamelor în stadiul pT3**

Studiul prezentat în capitolul al șaselea analizează prognosticul melanomelor cutanate diagnosticate în stadiul pT3, subliniind importanța înțelegerii factorilor de prognostic negativi pentru ghidarea opțiunilor terapeutice adecvate.

Factori precum vârsta la diagnostic, genul și localizarea tumorii primare au fost analizați prin intermediul analizei Cox univariate în relație cu intervalul liber de boală și cu supraviețuirea pacienților. În acest context, menționăm faptul că vârsta pacienților a fost singura variabilă asociată semnificativ atât cu intervalul liber de boală (HR=1,06; 95%CI=1,02-1,1; p=0,0053) cât și cu supraviețuirea (HR=1,07; 95%CI=1,02-1,13; p=0,0045).

Analizele Cox univariate au fost utilizate și pentru a evalua semnificația prognostică a caracteristicilor histopatologice. În acest sens, variabilele asociate semnificativ cu scăderea intervalului liber de boală au fost subtipul de melanom nodular, indicele Breslow, microsateliții, invazia limfo-vasculară și invazia perineurală. De asemenea, variabilele asociate semnificativ cu scăderea supraviețuirii pacienților au fost indicele Breslow, microsateliții și invazia perineurală.

Obiectivul principal al acestui studiu a fost reprezentat de evaluarea valorii prognostice a diametrului maxim macroscopic al tumorii și a lățimii invaziei microscopice. Lățimea invaziei a fost definită ca distanța maximă între două celule tumorale invazive, măsurată într-un plan aproximativ paralel pe suprafața epidermului și perpendicular pe planul măsurării indicelui Breslow (Figura 6.1), conform metodei propuse de Saldanha G. et al. [27].



Created in BioRender.com bio

**Fig. 6.1.** Reprezentarea grafică a metodei de măsurare a lățimii invaziei (după biorender.com)

În primul rând, s-a constatat că acești doi parametri sunt corelați semnificativ (coeficient de corelație Pearson  $r=0,6422$ ;  $95\%CI=0,4405-0,7821$ ;  $p<0,0001$ ). Totuși, lățimea invaziei microscopice, a fost asociată semnificativ atât cu intervalul de boală cât și cu supraviețuirea pacienților, în timp ce nu s-au stabilit astfel de asocieri pentru diametrul macroscopic maxim în cadrul analizei Cox univariate. În același context, s-a dovedit că profunzimea invaziei este un factor de prognostic semnificativ pentru intervalul liber de boală cât și pentru supraviețuire (Tabel VI.8).

**Tabel VI.8.** Analiza Cox univariată asupra valorii predictive pentru diametrul maxim macroscopic, lățimea invaziei și profunzimea invaziei

	Intervalul liber de boală			Supraviețuirea		
	HR	95%CI	p	HR	95%CI	p
Profunzimea invaziei	6,8	2,4-24,8	0,0011	8,81	2,48-48,92	0,0034
Lățimea invaziei	1,27	1,16-1,4	<0,0001	1,35	1,32-1,5	<0,0001

Diametrul maxim macroscopic	1,05	0,98-1,11	0,1207	1,05	0,97-1,13	0,1260
--------------------------------	------	-----------	--------	------	-----------	--------

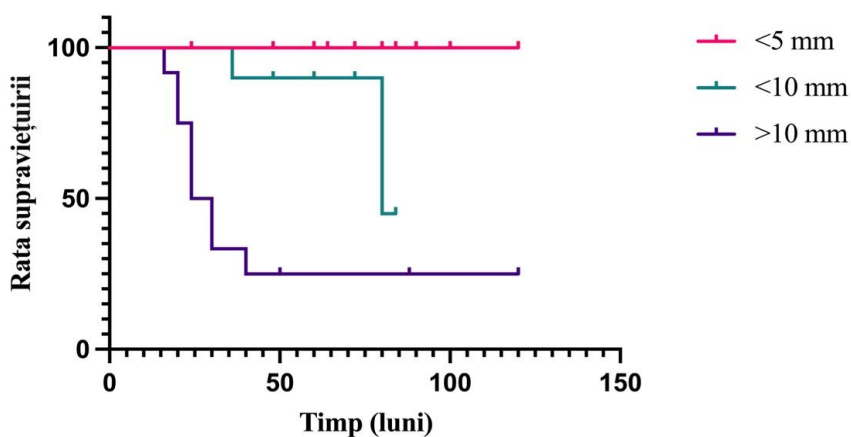
Ulterior, în cadrul analizelor Cox multivariate, lăţimea invaziei măsurată la microscopic s-a dovedit a fi singurul factor independent asociat cu intervalul de boală și supravieţuirea pacienţilor (Tabel VI.12).

**Tabel VI.12.** Analiza Cox multivariată asupra valorilor predictive pentru factorii de prognostic clinici și patologici

	Intervalul liber de boală			Supravieţuirea		
	HR	95%CI	p	HR	95%CI	p
Vârsta	1,04	0,96-1,15	0,3373	1,2	1,02-1,57	0,0787
Gen (Masculin)	2,04	0,5-14,68	0,3794	14,22	0,03-11769	0,3134
Localizarea tumorii						
Membre	Ref					
Cap și gât	1,6	0,07-19,5	0,7345	2,03	0,0005-76544	0,8447
Trunchi	0,58	0,07-4,33	0,5761	30,82	0,21-10036	0,1668
Tegument acral	0,57	0,04-7,04	0,6637	6,17	0,0004-5719	0,5872
Indicele Breslow	2,06	0,45-12,00	0,3746	28,09	0,14-8252	0,1891
Lăţimea invaziei	1,3	1,09-1,6	0,0057	2,08	1,28-10,96	0,0280
Indicele mitotic	0,85	0,62-1,1	0,2753	1,35	0,63-3,375	0,4135
Ulcerație	3,63	0,57-30,76	0,1947	0,01	0,81-20607	0,1362
Regresie	2,28	0,32-19,94	0,4038	25,01	8,328e-006 – 4,1	0,0911
Microsateliți	6,88	0,62-75,9	0,1099	7,56	0,0008-89652594	0,9967
Invazie limfo-vasculară	6,85	1,81-101,1	0,0153	0,06	8,463e-009 – 4,22	0,3341
Invazie perineurală	1,19	0,19-12,41	0,8620	1,35	0,15-18375	0,4005

În continuare, am realizat o analiză de tipul curbelor Kaplan-Meier pentru a evidenția modul în care lăţimea microscopică a invaziei influențează supravieţuirea în timp. Valorile prag

alese pentru lățimea invaziei au fost: lățime < 5 mm; lățime cuprinsă între 5-10 mm și lățime > 10 mm (Figura 6.18).



**Fig. 6.18.** Analiza Kaplan-Meier pentru supraviețuirea pacienților în funcție de valorile lățimii invaziei

Astfel am demonstrat că există o scădere importantă a procentului de supraviețuitori pe măsură ce crește lățimea invaziei. Supraviețuirea a scăzut de la 100% în grupul cu lățimea invaziei sub 5 mm până la 80% pentru cazurile cu lățimea invaziei cuprinsă între 5-10 mm și a fost de doar 18,18% în rândul pacienților cu lățimea invaziei peste 10 mm ( $p < 0,0001$ , testul log-rank).

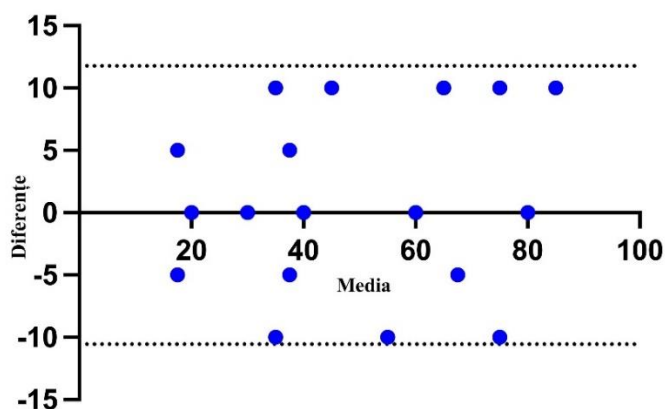
### **Studiul 3: Studiul valorii prognostice a activității proliferative în cazul melanoamelor cutanate în stadiul pT3 și pT4**

Cercetarea prezentată în capitolul al șaptelea și-a propus să evalueze relația dintre expresia indicelui Ki67, intervalul liber de boală și supraviețuirea pacienților cu melanoame cutanate diagnosticate în stadiile pT3 și pT4. Conform ghidurilor stabilite de AJCC, activitatea proliferativă a melanomelor ar trebui evaluată prin raportarea indicelui mitotic, considerat a avea valoare prognostică. Din acest motiv, a fost analizată corelația dintre valorile indicelui Ki67 și numărul de mitoze/mm<sup>2</sup>, precum și corelația dintre acești parametri și profunzimea invaziei. De asemenea, a fost analizată și valoarea predictivă pentru numărul de mitoze și indicele Ki67 prin intermediul analizei Cox și al curbelor de supraviețuire Kaplan-Meier.

Înainte însă de a realiza aceste analize, am stabilit o metodă standardizată și ușor reproductibilă de a estima valorile indicelui Ki67. Această metodă a presupus parcurgerea următorilor pași:

- Evaluarea întregii secțiuni la o putere de mărire a obiectivului de 10x pentru a identifica zonele cu activitatea proliferativă maximă;
- Realizarea a 10 fotografii din acele zone, la o putere de mărire a obiectivului de 40x;
- Imprimarea fotografiilor și numărarea a 100 de celule din cadrul fiecăreia;
- Determinarea numărului de celule pozitive pentru Ki67 din fiecare 100 de celule numărate;
- Pentru a fi considerată pozitivă, o celulă trebuie să prezinte expresie intensă la nivel nuclear a indicelui Ki67;
- Calcularea mediei indicelui Ki67 prin însumarea valorilor obținute pentru fiecare fotografie și împărțirea la 10.

Această metodă a dovedit un grad mare de concordanță inter-observator. Analiza Bland-Altman a demonstrat o diferență medie mică între cele două măsurători, sugerând astfel că nu există o diferență semnificativă sistematică între observatori (abatere=0,6061; deviație standard=5,695; cu limite de concordanță de 95% între -10.56 și 11.77) (Figura 7.3).



**Fig.7.3.** Analiza Bland-Altman asupra nivelului de concordanță inter-observator în evaluarea indicelui Ki67

În continuare, am evaluat nivelul de corelație dintre indicele mitotic și indicele Ki67, demonstrând că acești parametri sunt semnificativ corelați statistic (coeficient de corelație Pearson  $r=0,5439$ ; 95% CI= 0,2366-0,7522;  $p=0,0011$ ).



Ulterior, am analizat valoarea prognostică a acestor două variabile prin intermediul regresiei Cox univariate. În acest mod am arătat că indicele mitotic este asociat semnificativ cu supraviețuirea pacienților, dar nu și cu intervalul liber de boală (Tabel VII.3).

**Tabel VII.3.** Analiza Cox univariată asupra valorii predictive pentru indicele mitotic

	Intervalul liber de boală			Supraviețuirea		
	HR	95%CI	p	HR	95%CI	p
Analiza univariată	1,239	0,9538-1,653	0,1049	1,1	1,299-1,664	0,0126

În mod similar, indicele de proliferare Ki67 a fost asociat semnificativ cu supraviețuirea pacienților, dar nu și cu intervalul liber de boală (Tabel VII.5).

**Tabel VII.5.** Analiza Cox univariată asupra relației dintre indicele Ki67 și evoluția pacienților

	Intervalul liber de boală			Supraviețuirea		
	HR	95%CI	p	HR	95%CI	p
Analiza univariată	1,144	1,011-1,368	0,0696	1,1	1,033-1,237	0,0302

Cu toate acestea, în cadrul analizelor Cox multivariate, indicele mitotic a fost asociat atât cu intervalul liber de boală cât și cu supraviețuirea pacienților, în timp ce valorile indicelui Ki67 nu au mai avut semnificație statistică (Tabel VII.6).

**Tabel VII.6.** Analiza Cox multivariată asupra factorilor de prognostic clinici și patologici

	Intervalul liber de boală			Supraviețuirea		
	HR	95%CI	p	HR	95%CI	p
Vârsta	1,038	0,99-1,09	0,0998	1,23	1,08-1,51	0,0147
Gen (Masculin)	5,79	1,405-26,59	0,0171	84,46	5,31-3744	0,0076
Subtipul de melanom Extensiv în suprafață	Ref					

Lentiginos acral	9,79	0,86-132,2	0,0686	2,48	0,13-75,44	0,5652
Nodular	1,08	0,14-9,71	0,9405	0,08	0,003-1,41	0,0989
Indicele Breslow	1,08	1,01-1,15	0,0144	1,31	1,13-1,61	0,0018
Indice Ki67	0,99	0,96-1,02	0,6727	0,98	0,94-1,02	0,4263
Indicele mitotic	1,16	1,01-1,33	0,0276	1,31	1,05-1,79	0,0428
Ulceratie	0,41	0,05-2,29	0,3421	0,4	0,008-8,07	0,5804
Regresie	0,88	0,04-7,079	0,9228	0,61	0,008-18,64	0,7985
Microsateliți	0,55	0,09-2,68	0,9228	0,01	0,0001-0,61	0,058
Necroză	0,26	0,05-1,13	0,084	0,62	0,08-3,67	0,6032
Invazie limfo-vasculară	1,08	0,26-4,56	0,9091	0,09	0,005-1,26	0,075
Invazie perineurală	6,45	1,48-30,09	0,0131	35,68	2,8-1065	0,0167

În continuare, a fost examinată corelația dintre indicele Breslow și markerul Ki67, precum și numărul de mitoze/mm<sup>2</sup> pentru a determina dacă activitatea proliferativă este corelată cu profunzimea invaziei. În acest context, indicele Ki67 s-a dovedit a fi corelat semnificativ cu indicele Breslow (coeficient de corelație Pearson  $r=0,4749$ , 95%CI=0,1468-0,7088;  $p=0,0052$ ), în timp ce indicele mitotic nu a fost corelat cu profunzimea invaziei (coeficient corelație Pearson  $r=0,01687$ ; 95%CI=-0,3386-0,3664;  $p=0,9301$ ).

Ultima metodă utilizată pentru a estima valoarea predictivă a numărului de mitoze și a indicelui de proliferare Ki67 a fost reprezentată de analiza supraviețuirii prin intermediul curbelor Kaplan-Meier. Pentru indicele mitotic a fost folosită valoarea prag de 8 mitoze/mm<sup>2</sup>. În acest context, rata supraviețuirii pacienților cu <8 mitoze/mm<sup>2</sup> a fost de 68,42%, iar a celor cu  $\geq 8$  mitoze/mm<sup>2</sup> a fost de 21,42% ( $p=0,0003$ , testul log-rank).

În ceea ce privește indicele Ki67, valoarea prag aleasă a fost de 50%. Rata supraviețuirii în grupul cu indice Ki67<50% a fost de 63,63% și de 18,18% în grupul pacienților cu Ki67 $\geq$ 50% ( $p=0,0072$ , testul log-rank).

În final, atragem atenția asupra unor situații particulare în care în ciuda valorilor relativ scăzute ale indicelui mitotic (5 mitoze/mm<sup>2</sup>) cât și ale indicelui de proliferare Ki67 (15%), evoluția pacientului a fost nefavorabilă. Acesta a fost cazul unui pacient de gen masculin, în

vârstă de 65 de ani, diagnosticat cu un melanom nodular ulcerat, cu profunzimea invaziei 3,51 mm, fără alți factori histopatologici de prognostic negativ. Totuși, pacientul a dezvoltat multiple metastaze, decedând peste 30 de luni. Particularitatea cazului este reprezentată de faptul că în leziunile metastatice, proliferarea tumorală a avut aspect sarcomatoid, fiind reprezentată de celule fuziforme, cu atipii marcate și formare de spații vasculare, similar angiosarcomului. Dediferențierea angiosarcomatoasă a fost dovedită prin pierderea expresiei imunohistochemice a markerilor melanocitari, cu excepția SOX10 și prin pozitivitatea unor markeri vasculari precum ERG sau CD31.

## **Concluzii și contribuții personale**

Această cercetare doctorală s-a concentrat pe estimarea prognosticului pacienților cu melanom cutanat în stadiile pT3 și pT4, având în vedere evoluția imprevizibilă a acestor cazuri și provocările pe care le ridică pentru deciziile terapeutice. Cercetarea s-a concentrat pe evaluarea valorii predictive pentru diferiți factori clinici și histopatologici. În plus, s-a explorat importanța analizei imunohistochemice a markerului de proliferare Ki67 în raport cu valoarea prognostică a indicelui mitotic.

Capitolul 5 a evidențiat factorii prognostici clinici și histopatologici pentru melanomul cutanat cu invazie peste 4 mm. Genul feminin a fost semnificativ din punct de vedere statistic în prezicerea unui interval mai lung de supraviețuire fără boală și a supraviețuirii generale în analiza univariată. În același context, subtipul de melanom extensiv în suprafață a fost semnificativ asociat cu o creștere a intervalului liber de boală și a supraviețuirii generale. Pe de altă parte, indicele mitotic a fost semnificativ asociat doar cu intervalul liber de boală în analiza univariată.

Indicele Breslow, necroza, microsateliții și invazia perineurală au fost identificate ca factori prognostici independenți pentru o scădere a intervalului liber de boală și a supraviețuirii generale. În plus, analizele Kaplan-Meier au ilustrat asociații semnificative din punct de vedere statistic între supraviețuirea redusă, și indicele Breslow, invazia perineurală și necroza tumorală. Din aceste motive, contribuția personală semnificativă constă în stabilirea valorii prognostice pentru doi factori histopatologici (necroza tumorală și invazia perineurală) care până în prezent

au fost analizați foarte sumar în legătură cu evoluția melanoamelor cutanate. De asemenea, demonstrând că rata supraviețuirii pacienților continuă să scadă pe măsură ce indicele Breslow crește peste pragul de 4 mm, am contribuit semnificativ la îmbunătățirea identificării pacienților cu risc înalt de progresie al bolii.

O contribuție personală semnificativă în Capitolul 6 a fost identificarea valorilor prognostice ale diametrului maxim al tumorii măsurat macroscopic și lățimii invaziei măsurate microscopic. Relația între acești doi parametri a fost determinată, arătând o corelație semnificativă între diametrul maxim al tumorii determinat macroscopic și lățimea invaziei măsurate microscopic. Cu toate acestea, valorile prognostice ale acestor două variabile au diferit semnificativ. Diametrul maxim al tumorii nu a fost asociat semnificativ cu intervalul liber de boală (HR=1,05; IC 95%=0,98-1,11; p=0,1207) sau cu supraviețuirea pacientului (HR=1,05; IC 95%=0,97-1,13; p=0,126), în timp ce lățimea invaziei a fost un factor de prognostic independent atât pentru intervalul liber de boală (HR=1,3; IC 95%=1,09-1,6; p=0,0057) cât și pentru supraviețuirea pacientului (HR=2,08; IC 95%=1,28-10,96; p=0,028). Mai mult, analiza Kaplan-Meier a demonstrat o scădere semnificativă a supraviețuirii pacientului odată cu creșterea lățimii invaziei (p<0,0001).

În sfârșit, cel de-al treilea studiu a contribuit la înțelegerea utilității evaluării activității proliferative a melanomelor prin metode histopatologice și imunohistochimice. În Capitolul 7, a fost propusă o metodă reproductibilă, cu un bun grad de concordanță inter-observator și standardizată pentru a măsura corect procentul de celule Ki67-pozitive. De asemenea, a fost arătată o corelație semnificativă între indicele mitotic și indicele Ki67. Cu toate acestea, indicele mitotic a fost asociat independent cu intervalul liber de boală și supraviețuirea pacienților, spre deosebire de indicele Ki67, care nu a fost un factor prognostic independent nici pentru intervalul liber de boală, nici pentru supraviețuire. De asemenea, prin intermediul curbelor de supraviețuire Kaplan-Meier, am demonstrat că atât valorile crescute ale numărului de mitoze/mm<sup>2</sup> cât și ale indicelui de proliferare Ki67 sunt asociate cu scăderea supraviețuirii, dar semnificația statistică a fost mai puternică pentru analiza pe baza numărului de mitoze. Aceste rezultate subliniază contribuția esențială a studiului în demonstrarea faptului că analiza expresiei Ki67, atunci când este efectuată corect, este inferioară în valoare prognostică față de evaluarea numărului de mitoze pe mm<sup>2</sup>, motiv pentru care analiza imunohistochimică suplimentară a Ki67 are o utilitate limitată pentru a prezice prognosticul melanomelor cutanate.

## Bibliografie selectivă

1. Davis L E, Shalin SC, Tackett AJ. Current state of melanoma diagnosis and treatment. *Cancer biology & therapy*, 20(11), 1366–1379, 2019.  
<https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1640032>
2. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Thompson JF, Long GV, Ross MI, Lazar AJ, Atkins MB, Balch CM, Barnhill RL et al. Melanoma of the Skin. In *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed.; Springer International Publishing, AG: Cham, Switzerland, 2017, pp 563–585
3. Buja A, Bardin A, Damiani G, Zorzi M, De Toni C, Fusinato R, Spina R, Vecchiato A, Del Fiore P, Mocellin S, Baldo V, Rugge M, Rossi CR. Prognosis for Cutaneous Melanoma by Clinical and Pathological Profile: A Population-Based Study. *Frontiers in oncology*, 11, 737399, 2021. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.737399>
4. Boada A, Tejera-Vaquero A, Requena C, Manrique-Silva E, Traves V, Nagore E. Association between melanoma thickness and clinical and demographic characteristics. *European journal of dermatology*, 31(4), 514-520, 2021.  
<https://doi.org/10.1684/ejd.2021.4096>
5. Dzwierzynski W. W. Melanoma Risk Factors and Prevention. *Clinics in plastic surgery*, 48(4), 543–550, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2021.05.001>
6. Pérez-Aldrete BM, Matildes-Mariscal JB, Gómez-Padilla F, Guevara-Gutiérrez E, Barrientos-García JG, Hernández-Peralta SL, Tlacuilo-Parra A. Cutaneous melanoma in patients from western Mexico: Clinical pathology characteristics and their relationship to prognosis. *The Australasian journal of dermatology*, 60(4), e298–e303, 2019.  
<https://doi.org/10.1111/ajd.13054>
7. Sharma N, Adhikari RC, Sayami G. Primary Cutaneous Melanoma in a Tertiary Hospital: A Retrospective Study. *Journal of Nepal Health Research Council*, 19(2), 300–304, 2021. <https://doi.org/10.33314/jnhrc.v19i2.3086>
8. Ferhatoglu F, Erturk K, Faruk T. Cutaneous melanoma survival rates of the elderly are not worse than those of the young, yet they have some specific differences. *Journal of cancer research and therapeutics*, 19(Supplement), S349-S354, 2023.  
[https://doi.org/10.4103/jcrt.jcrt\\_815\\_21](https://doi.org/10.4103/jcrt.jcrt_815_21)

9. Ding Y, Jiang R, Chen Y, Jing J, Yang X, Wu X, Zhang X, Xu J, Xu P, LiuHuang SC, Lu Z. Comparing the characteristics and predicting the survival of patients with head and neck melanoma versus body melanoma: a population-based study. *BMC cancer*, 21(1), 420, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08105-y>
10. Hwa Lee S, Ung Ha G, Ji Lee H, Yun Chung H, Huh S, Ha DL, Duck Park K, Hyun Jang Y, Ju Lee W, Lee SJ, Young Kim J. Survival rates for invasive cutaneous malignant melanoma in South Korea in accordance with the Eighth edition AJCC Cancer Staging Manual: A retrospective single center study. *Indian journal of dermatology, venereology and leprology*, 1–7, 2023. [https://doi.org/10.25259/IJDVL\\_352\\_2022](https://doi.org/10.25259/IJDVL_352_2022)
11. Blakely AM, Cohen JT, Comissiong DS, Vezeridis MP, Miner TJ. Prognosis and Management of Thick and Ultrathick Melanoma. *American journal of clinical oncology*, 42(11), 824–829, 2019. <https://doi.org/10.1097/COC.0000000000000604>
12. Aguilar-Romero E, Chávez-Hernández JD, Zepeda-Najar C, Salcedo-Hernández RA, Lino-Silva LS. Prognostic variables in patients with thick melanomas. Analysis of 362 cases. *Gaceta medica de Mexico*, 157(2), 207–211, 2021. <https://doi.org/10.24875/GMM.M21000543>
13. Han D, Han G, Duque MT, Morrison S, Leong SP, Kashani-Sabet M, Vetto J, White R, Schneebaum S, Pockaj B, Mozzillo N, Sondak VK, Zager JS. Sentinel Lymph Node Biopsy Is Prognostic in Thickest Melanoma Cases and Should Be Performed for Thick Melanomas. *Annals of surgical oncology*, 28(2), 1007–1016, 2021. <https://doi.org/10.1245/s10434-020-08706-0>
14. Han D, Han G, Morrison S, Leong SP, Kashani-Sabet M, Vetto J, White R, Schneebaum S, Pockaj B, Mozzillo N, Sondak VK, Zager JS. Factors predicting survival in thick melanoma: Do all thick melanomas have the same prognosis?. *Surgery*, 168(3), 518–526, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2020.04.048>
15. El Sharouni MA, Rawson RV, Sigurdsson V, Witkamp AJ, van Gils CH, Scolyer RA, Thompson JF, van Diest PJ, Lo SN. The progressive relationship between increasing Breslow thickness and decreasing survival is lost in patients with ultrathick melanomas ( $\geq 15$  mm in thickness). *Journal of the American Academy of Dermatology*, 87(2), 298–305, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2022.01.040>

16. Ruskin O, Sanelli A, Herschtal A, Webb A, Dixon B, Pohl M, Donahoe S, Spillane J, Henderson MA, Gyorki DE. Excision margins and sentinel lymph node status as prognostic factors in thick melanoma of the head and neck: A retrospective analysis. *Head & neck*, 38(9), 1373–1379, 2016. <https://doi.org/10.1002/hed.24444>
17. Yamamoto M, Fisher KJ, Wong JY, Koscsó JM, Konstantinovic MA, Govsyeyev N, Messina JL, Sarnaik AA, Cruse CW, Gonzalez RJ, Sondak VK, Zager JS. Sentinel lymph node biopsy is indicated for patients with thick clinically lymph node-negative melanoma. *Cancer*, 121(10), 1628–1636, 2015. <https://doi.org/10.1002/cncr.29239>
18. Gyorki DE, Sanelli A, Herschtal A, Lazarakis S, McArthur GA, Speakman D, Spillane J, Henderson MA. Sentinel Lymph Node Biopsy in T4 Melanoma: An Important Risk-Stratification Tool. *Annals of surgical oncology*, 23(2), 579–584, 2016. <https://doi.org/10.1245/s10434-015-4894-4>
19. El Sharouni MA, Witkamp AJ, Sigurdsson V, van Diest PJ, Suijkerbuijk KPM. Thick melanomas without lymph node metastases: A forgotten group with poor prognosis. *European journal of surgical oncology*, 46(5), 918–923, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2019.11.510>
20. Rughani MG, Swan MC, Adams TS, Marshall A, Asher R, Cassell OC, Middleton MR. Sentinel node status predicts survival in thick melanomas: the Oxford perspective. *European journal of surgical oncology*, 38(10), 936–942, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2012.04.011>
21. Kachare SD, Singla P, Vohra NA, Zervos EE, Wong JH, Fitzgerald TL. Sentinel lymph node biopsy is prognostic but not therapeutic for thick melanoma. *Surgery*, 158(3), 662–668, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2015.05.012>
22. White I, Fortino J, Curti B, Vetto J. Clinical impact of sentinel lymph node biopsy in patients with thick (>4 mm) melanomas. *American journal of surgery*, 207(5), 702–707, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2013.12.022>
23. Ribero S, Osella-Abate S, Sanlorenzo M, Balagna E, Senetta R, Fierro MT, Macripò G, Macrì L, Sapino A, Quaglino P. Sentinel Lymph Node Biopsy in Thick-Melanoma Patients (N=350): What is Its Prognostic Role?. *Annals of surgical oncology*, 22(6), 1967–1973, 2015. <https://doi.org/10.1245/s10434-014-4211-7>

24. Boada A, Tejera-Vaquerizo A, Ribero S, Puig S, Moreno-Ramírez D, Osella-Abate S, Cassoni P, Malvey J, Podlipnik S, Requena C, Manrique-Silva E, Rios-Martin JJ, Ferrándiz C, Nagore, E, & SENTIMEL study group. Age as a prognostic factor in thick and ultrathick melanomas without lymph node metastasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 34(9), e513–e517, 2020. <https://doi.org/10.1111/jdv.16423>
25. Scolyer RA, Rawson RV, Gershenwald JE, Ferguson PM, Prieto VG. Melanoma pathology reporting and staging. *Modern pathology*, 33(Suppl 1), 15–24, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0402-x>
26. Ladstein RG, Bachmann IM, Straume O, Akslen LA. Tumor necrosis is a prognostic factor in thick cutaneous melanoma. *The American journal of surgical pathology*, 36(10), 1477–1482, 2012. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31825a5b45>
27. Saldanha G, Khanna A, O'Riordan M, Bamford M. The Width of Invasion in Malignant Melanoma Is a Novel Prognostic Feature That Accounts for Outcome Better Than Breslow Thickness. *The American journal of surgical pathology*, 44(11), 1522–1527, 2020. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001529>
28. Bamford M, Udensi L, Khanna A, O'Riordan M, Saldanha G. Comparison of the prognostic value of microscopically measured invasive width versus macroscopic width in cutaneous melanoma shows the superiority of microscopic invasive width measurement. *Journal of cutaneous pathology*, 49(6), 536–542, 2022. <https://doi.org/10.1111/cup.14220>
29. **Țăpoi DA**, Gheorghişan-Gălăţeanu AA, Dumitru AV, Ciongariu AM, Furtunescu AR, Marin A, Costache M. Primary Undifferentiated/Dedifferentiated Cutaneous Melanomas-A Review on Histological, Immunohistochemical, and Molecular Features with Emphasis on Prognosis and Treatment. *International journal of molecular sciences*, 24(12), 9985, 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24129985>
30. Dumitru AV, **Țăpoi DA**, Costache M, Ciongariu AM, Ionescu AI, Liscu HD, Alius C, Tampa M, Marin A, Furtunescu AR. Metastatic Nodular Melanoma with Angiosarcomatous Transdifferentiation—A Case Report and Review of the Literature. *Diagnostics*, 14(13):1323, 2024.



<https://doi.org/10.3390/diagnostics14131323>

31. Jurmeister P, Bockmayr M, Treese C, Stein U, Lenze D, Jöhrens K, Friedling F, Dietel M, Klauschen F, Marsch W, Fiedler E, von Laffert M. Immunohistochemical analysis of Bcl-2, nuclear S100A4, MITF and Ki67 for risk stratification of early-stage melanoma - A combined IHC score for melanoma risk stratification. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 17(8), 800–808, 2019.

<https://doi.org/10.1111/ddg.13917>

32. Flørenes VA, Maelandsmo GM, Faye R, Nesland JM, Holm R. Cyclin A expression in superficial spreading malignant melanomas correlates with clinical outcome. *The Journal of pathology*, 195(5), 530–536, 2001. <https://doi.org/10.1002/path.1007>

33. Du Y, Li C, Mao L, Wei X, Bai X, Chi Z, Cui C, Sheng X, Lian B, Tang B, Wang X, Yan X, Li S, Zhou L, Guo J, Si L. A nomogram incorporating Ki67 to predict survival of acral melanoma. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 149(14), 13077–13085, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00432-023-05127-w>

## LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚICE PUBLICATE

### Articole științifice publicate in extenso în reviste de specialitate

1. Gosman, L. M., **Țăpoi, D. A.\***, Costache, M. Cutaneous Melanoma: A Review of Multifactorial Pathogenesis, Immunohistochemistry, and Emerging Biomarkers for Early Detection and Management. *International journal of molecular sciences*, 24(21), 15881, 2023 – indexată în Web Of Science Core Collection, factor de impact 5,6. <https://doi.org/10.3390/ijms242115881> (capitolul 1, pagina 17 și capitolul 2, paginile 30-33)
2. **Țăpoi, D. A.**, Gheorghisan-Gălățeanu, A. A., Dumitru, A. V., Ciongariu, A. M., Furtunescu, A. R., Marin, A., Costache, M. Primary Undifferentiated/Dedifferentiated Cutaneous Melanomas-A Review on Histological, Immunohistochemical, and Molecular Features with Emphasis on Prognosis and Treatment. *International journal of molecular sciences*, 24(12), 9985, 2023 – indexată în Web Of Science Core Collection, factor de impact 5,6. <https://doi.org/10.3390/ijms24129985> (capitolul 2, paginile 20-24, capitolul 7, pagina 125)
3. **Țăpoi, D. A.**, Derewicz, D., Gheorghisan-Gălățeanu, A. A., Dumitru, A. V., Ciongariu, A. M., Costache, M. The Impact of Clinical and Histopathological Factors on Disease Progression and Survival in Thick Cutaneous Melanomas. *Biomedicines*, 11(10), 2616, 2023 – indexată în Web Of Science Core Collection, factor de impact 4,7. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11102616> (capitolul 5, paginile 44-77)
4. **Țăpoi D.A.**, Gheorghisan-Gălățeanu A-A., Gosman L.M., Dumitru A.V., Ciongariu A.M., Costache M. Prognostic Value of the Width of Invasion in pT3 Cutaneous Melanomas. *International Journal of Translational Medicine*, 4(1):1-14, 2024 – indexată în BDI. <https://doi.org/10.3390/ijtm4010001> (capitolul 6, paginile 78-106)
5. **Țăpoi D.A.**, Gheorghisan-Gălățeanu A-A, Gosman L.M., Derewicz D., Costache M. The Prognostic Value of Proliferative Activity in Cutaneous Melanoma: A Pilot Study Evaluating the Mitotic Rate and Ki67 Index to Predict Patient

Outcomes. *Biomedicines*. 12(6):1318, 2024 – indexată în Web Of Science Core Collection, factor de impact 3,9. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12061318> (capitol 7, paginile 107-125)

6. Dumitru A.V., **Țăpoi D.A.\***, Costache M., Ciongariu A.M., Ionescu A.I., Liscu H.D., Alius C., Tampa M., Marin A., Furtunescu A.R. Metastatic Nodular Melanoma with Angiosarcomatous Transdifferentiation—A Case Report and Review of the Literature. *Diagnostics*. 14(13):1323, 2024 – indexată în Web Of Science Core Collection, factor de impact 3. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14131323> (capitol 7, paginile 121-125)

### **Lucrări prezentate la congrese medicale**

1. **Țăpoi D.A.**, Dumitru A, Marin A, Sajin M, Costache M, Ciongariu A. Predictive clinicopathological factors for metastasis in cutaneous melanomas: a case series and review of literature – prezentare orală în secțiunea “Premierea tinerilor medici” organizată în cadrul celui de-al XVIII-lea Simpozion Național de Morfologie Microscopică, cu participare internațională, Craiova, 2022 (premiul II)
2. **Țăpoi D.A.**, Dumitru A, Ciongariu A, Chetroiu D, Grădinaru S, Aliuș C, Costache M. Primary cutaneous melanoma with rhabdomyoblastic differentiation – histopathological and immunohistochemical analysis of an extraordinarily rare malignancy – poster la al XXXV-lea Congres al Societății Europene de Paologie, Dublin, 2023