



2024

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
ANATOMIE PATOLOGICĂ

*Predictibilitatea evaluării prin metode morfologice complexe a
tumorilor pulmonare maligne în vederea tratamentului oncologic de
precizie*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. SAJIN MARIA

Student-doctorand:

NEACȘU (căs. ALMARI) FLORINA

2024



CUPRINS

INTRODUCERE.....	7
I. PARTEA GENERALĂ - stadiul actual al cunoașterii -	9
1. EMBRIOLOGIA SISTEMULUI RESPIRATOR.....	10
2. ANATOMIA ȘI HISTOLOGIA SISTEMULUI RESPIRATOR	13
2.1. Bronhiile.....	13
2.2. Bronhiiolele	15
2.2.1. Structura bronhiolară.....	15
2.2.2. Funcția bronhiiolelor	16
2.3. Alveolele.....	16
2.4. Circulația sanguină și inervația	17
3. CANCERUL PULMONAR	19
3.1. Epidemiologie și etiologie.....	19
3.2. Aspecte clinice.....	21
3.3 Diagnosticul imagistic al tumorilor maligne pulmonare	21
3.4. Aspecte macroscopice ale tumorilor maligne pulmonare	22
3.5. Aspecte microscopice ale tumorilor maligne pulmonare	24
3.6. Aspecte imunohistochimice ale carcinoamelor pulmonare	27
3.7. Aspecte moleculare ale carcinoamelor pulmonare.....	30
3.8. Tratamentul cancerului pulmonar.....	32
3.8.1. Tratamentul carcinomului pulmonar non-microcelular.....	32
3.8.2. Tratamentul carcinomului pulmonar microcelular	35
II. PARTEA SPECIALĂ -contribuția personală-	36
4. SCOPUL LUCRĂRII.....	37
5. OBIECTIVELE STUDIULUI.....	38
6. MATERIALE ȘI METODE.....	39
6.1. Algoritmul de evaluare a pieselor de rezecție	39
6.2. Tehnica colorării H&E	42
6.3. Tehnica colorării IHC.....	43
6.4. Colectarea și analiza datelor	44



7. REZULTATE	45
7.1 Analiza descriptivă a lotului studiat	45
7.2. Analiza micromediului tumoral în adenocarcinomul pulmonar.....	60
7.2.1. Introducere.....	60
7.2.2. Materiale și metode	61
7.2.3 Rezultate	62
7.2.4 Discuții	80
7.3. Analiza distribuției spațiale a infiltratului inflamator din micromediul tumoral	83
7.3.1. Introducere.....	83
7.3.2. Materiale și metode	83
7.3.3 Rezultate	84
7.3.4. Discuții	96
7.4. Analiza prin patologie digitală a tumorilor pulmonare maligne	97
7.4.1. Introducere.....	97
7.4.2 Materiale și metode	98
7.4.3 Rezultate	99
7.4.4 Discuții	113
7.5 PathAdapt – un dispozitiv de raportare a tumorilor pulmonare pentru patologii din România	115
8. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	122
8.1. Concluzii.....	122
8.2. Contribuții personale	127
Bibliografie.....	129
Anexe.....	147



I. PARTEA GENERALĂ - stadiul actual al cunoașterii

1. EMBRIOLOGIA SISTEMULUI RESPIRATOR

Dezvoltarea plămânilor cuprinde două etape fundamentale: o primă etapă de formare a ductelor aeriene și etapa tardivă, de dezvoltare a interfeței respiratorii. Organogeneza pulmonară se bazează pe interacțiuni complexe între endoderm și mezoderm, realizate prin factori de creștere, hormoni și mecanisme complexe de semnalizare și debutează în săptămânile embrionice 3 și 4 prin formarea mugurilor pulmonari primitivi, derivați din endodermul intestinului proximal. În continuare urmează un proces complex de dezvoltare tridimensională, iar cele ce definesc etapele embriologice sunt evenimentele celulare și morfologia pulmonară, în detrimentul perioadei calendaristice [1].

2. ANATOMIA ȘI HISTOLOGIA SISTEMULUI RESPIRATOR

Sistemul respirator este alcătuit din cei doi plămâni și o serie de ducte ce conduc aerul către și dinspre plămâni. În plămâni, căile aeriene se ramifică în structuri cu dimensiuni ce scad progresiv, până la nivelul celui mai mic spațiu aerian, numit alveolă. Acest sistem îndeplinește trei funcții principale: conducerea, filtrarea aerului și schimbul gazos, la nivel alveolar [2].

Traheea se divide în cele două bronhii principale, dreaptă și stângă. La nivelul hilului pulmonar, fiecare bronhie se divide în bronhiile lobare (bronhii secundare). Plămânul stâng este format din doi lobi, iar plămânul drept din trei și, de aceea, bronhia principală dreaptă se divide în trei bronhii lobare, iar cea stângă în două. Plămânul stâng este mai departe împărțit în opt segmente bronhopulmonare, iar plămânul drept în zece, fiecare segment fiind deservit de câte o bronhie terțiară sau segmentară [3].

Inițial, bronhiile au aceeași structură histologică precum a traheei. După intrarea în parenchimul pulmonar, inelele cartilaginoase sunt înlocuite cu plăci cartilaginoase cu contururi neregulate, dispuse liniar pe întreaga circumferință a peretelui, conferind astfel forma cilindrică a bronhiilor. Pe măsură ce bronhiile se ramifică și scad în dimensiuni, se diminuează conținutul peretelui în țesut cartilaginos și dispare complet când acestea ating diametrul de 1 mm, devenind bronhiole. A doua modificare observată la nivelul peretelui bronhiei intrapulmonare este creșterea cantității de țesut muscular neted direct proporțional cu scăderea conținutului în cartilaj, formând un strat muscular continuu ce devine întrerupt în bronhiile mai mici [4].



Segmentele bronhopulmonare sunt divizate mai departe în lobuli pulmonari, fiecare cu câte o bronhiolă aferentă. Pe suprafața seroasă, lobulii apar ca zone poligonale delimitate de un discret țesut conjunctiv. Fiecare lobul este format din mai mulți acini pulmonari. Cea mai mică unitate funcțională a plămânului este unitatea respiratorie bronhiolară, formată dintr-o bronhiolă respiratorie și alveolele ce o deservesc. Ductele alveolare sunt căi aeriene alungite, fără perete propriu, delimitate doar de pereții alveolari. Sacii alveolari sunt spații aeriene înconjurate de grupuri de alveole ce se deschid în ei. Ei pot fi localizați la capătul ductelor aeriene sau oriunde de-a lungul acestora [5].

Alveolele sunt sediul schimbului gazos dintre aer și sânge. Fiecare alveolă este o cameră poliedrică cu diametrul de 0,2 mm, mărginită de un perete subțire (sept alveolar), fiind înconjurată de o bogată rețea de capilare ce aduce sânge în apropierea aerului inspirat din interiorul alveolelor [2]. Epiteliul alveolar este compus din celule alveolare de tip I și de tip II și ocazionale celule în perie. Fiind expus constant la particule inhalate, patogeni și toxine, epiteliul alveolar conține și unele celule specializate cu rol în apărare [2,6].

3. CANCERUL PULMONAR

Pe plan internațional, cancerul pulmonar continuă să fie principala cauză de deces prin cancer la bărbați și la femei, nivelul de dezvoltare economică având rol important mai ales în rândul pacienților de sex feminin [7]. Conform Studiului Global privind Tutunul la Adulți din 2018, 30,7% dintre românii peste 15 ani au consumat tutun sub orice formă, regulat, iar 30% sub formă de fumat de țigarete, media consumului de țigarete fiind de 16,5/zi.

Evoluția fumatului în România raportată de Ministerul Sănătății din România în 2019 arată că per total consumul curent de tutun a crescut de la 26,8% în 2011 la 30,7% în 2018, fiind o creștere relativă de 14,9% [8].

În România, în raportul publicat de Organizația Mondială a Sănătății în anul 2020, cancerul pulmonar era pe locul doi ca număr total de cazuri noi la ambele sexe, el reprezentând 12,3% din numărul total de cazuri. În anul 2020 au fost diagnosticate 9030 de cazuri noi de cancer pulmonar la bărbați, acesta ocupând primul loc, iar la femei au fost diagnosticate 3092 de cazuri, cancerul pulmonar ocupând locul patru, după cancerul mamar, colorectal și cel de col uterin [9].



La momentul diagnosticului, mai mult de 90% dintre pacienții cu cancer pulmonar prezintă simptome, cel mai frecvent fiind tusea [10]. Simptomatologia este strâns legată de localizarea proliferării tumorale. Tumorile centrale prezintă mai frecvent simptome asociate cu afectarea bronhiilor principale, bronhiilor lobare sau segmentare proximale și acestea includ tusea, hemoptizia, dispneea, disfonia sau stridorul dat de obstrucția bronșică. Pacienții cu tumori localizate periferic pot prezenta tuse, durere de tip pleuritic sau dispnee [10].

Cancerul pulmonar primar se manifestă ca o leziune nodulară sau masă tumorală, uneori putând lua forme complexe. Acesta este detectat inițial prin radiografie toracică și din ce în ce mai frecvent prin tomografie computerizată (CT), fie ca o descoperire incidentală sau în cadrul unui program de screening [11].

Din punctul de vedere al aspectului microscopic, putem identifica leziunile de hiperplazie adenomatoasă atipică ca o arie milimetrică nodulară slab delimitată, cenușiu-roșiatică [11]. Leziunile de până la 3 cm, cu aspect compact sau cu spații aeriene vizibile sunt cel mai frecvent adenocarcinoame in situ [11].

Adenocarcinomul minim invaziv apare ca leziune nodulară periferică cu arie centrală solidă, mai mică de 5 mm, înconjurată de țesut pulmonar colabat. Frecvent asociază pigment antracotic și refracție pleurală [12].

Adenocarcinomul pulmonar invaziv, poate fi non-mucinos și mucinos. Acesta apare ca o leziune nodulară cu margine slab delimitată, cenușiu-albicioasă, cu cicatrice fibroasă centrală sau de consistență scăzută, cu aspect gelatinos/mucoid [11]. Același aspect gelatinos, moale este întâlnit și în adenocarcinoamele coloide.

Displazia scuamoasă și carcinomul scuamos in situ sunt leziuni preinvazive ce derivă din epiteliul bronșic. Macroscopic se evidențiază cel mai frecvent în vecinătatea bifurcațiilor ca leziuni polipoide sau nodulare de 1-2 mm. Sunt mai frecvente leziunile plate mai mari de 1 cm și prezintă mucoasă focal îngroșată, cu aspect neregulat și vascularizație crescută [11][13].

Carcinomul scuamos pulmonar este o leziune fermă, slab delimitată, albicioasă, cenușie sau brună. Pot exista arii de hemoragie, de necroză și degenerescență chistică, mai ales în tumorile de dimensiuni mari. Tumorile centrale sunt evidențiate ca leziuni endobronșice cu aspect exofitic, papilar [11].



Carcinoamele cu celule mari sunt de obicei tumori de mari dimensiuni, circumscrise, solide, frecvent necrozate și rareori cu arii chistice [11].

Tumorile carcinoide sunt leziuni centrale, au frecvent creștere endobronșică și apar ca leziuni rotund-ovalare, de dimensiuni variabile, dar mai mari de 5 mm, de culoare cenușie sau gălbuie, de consistență scăzută sau fermă [14].

Carcinoamele neuroendocrine cu celule mari sunt frecvent leziuni periferice, de mari dimensiuni, bine-delimitate, brun-roșiatice și cu arii de necroză [15].

Carcinoamele neuroendocrine cu celule mici sunt leziuni mari perihilare, frecvent nerezecabile și extensiv invadante [11]. Apar ca tumori ce se mulează frecvent pe conturul bronșic, de culoare brună și cu arii extinse de necroză. Doar 5% apar ca noduli periferici circumscriși [16].

În ceea ce privește aspectul microscopic, hiperplazia adenomatoasă atipică este o leziune precursoră a adenocarcinomului pulmonar in situ și este constituită dintr-o proliferare de dimensiuni reduse (<5 mm) de pneumocite de tip II cu atipii moderate și/sau celule bronhiolare exocrine, cunoscute și sub denumirea de celule Clara (în prezent, în engleză este folosit termenul de “club cells”). Acestea tapetează pereții alveolari și uneori și pe cei ai bronhiolelor respiratorii [11].

Adenocarcinomul pulmonar in situ este o leziune de talie mică (<30 mm) compusă din celule neoplazice extinse pe septurile alveolare pre-existente, dând așa numitul pattern lepidic de creștere, fără aspecte clare de invazie stromală, vasculară, a spațiilor aeriene, pleurală sau de necroză [17]. Celulele tumorale se dispun într-un șir continuu, sunt unistratificate, rareori pseudostratificate, fără formarea de structuri papilare sau micropapilare și fără celule tumorale în spațiile alveolare. În funcție de aspectul celulelor tumorale, acesta poate fi non-mucinos sau mucinos [11].

Adenocarcinomul minim invaziv este definit ca o leziune solitară ce măsoară mai puțin de 3 cm, având preponderent pattern lepidic de creștere și o arie de invazie mai mică de 5 mm. Cel mai frecvent este non-mucinos, dar rareori poate fi și mucinos și mixt [18]. Subtipul non-mucinos este format din pneumocite de tip II, cu sau fără celule Clara. Cel mucinos prezintă celule columnare cu mucină apicală abundentă și nuclei bazali, fiind asemănătoare celulelor caliciforme colonice. Aria de invazie este definită prin prezența altor subtipuri histologice de adenocarcinom decât cel lepidic: acinar, papilar, micropapilar, solid, coloid, enteric, fetal sau mucinos invaziv sau prin prezența de celule tumorale ce infiltrează stroma miofibroblastică [11].



Adenocarcinomul pulmonar invaziv non-mucinos este un carcinom pulmonar non-microcelular cu diferențiere glandulară evidențiable morfologic și imunohistochimic. Morfologic acesta constă dintr-un amestec de patternuri arhitecturale (lepidic, acinar, papilar, micropapilar și solid) și poate fi clasificat în subtipuri în funcție de patternul care predomină [17].

Adenocarcinomul mucinos invaziv este un neoplasm primar pulmonar caracterizat printr-o proliferare de celule epiteliale cubic-columnare cu mucină abundentă intracitoplasmatică și nuclei orientați la polul bazal, de cele mai multe ori fără atipii marcate. Dispoziția celulelor tumorale poate fi variată, cu model de creștere lepidic, acinar, papilar, micropapilar, solid sau cribriform [19]. Tumorile cu morfologie heterogenă, mucinoasă și non-mucinoasă, se numesc adenocarcinoame mixte dacă fiecare componentă ocupă mai mult de 10% din suprafața tumorală [20].

Carcinomul scuamocelular este o tumoră malignă epitelială caracterizată prin prezența keratinizării, a punților intercelulare și imunofenotip specific pentru diferențierea scuamoasă [21].

În funcție de aspectul microscopic, acesta a fost împărțit în carcinom keratinizant, nekeratinizant și bazaloid. Carcinomul keratinizant este alcătuit dintr-o proliferare de celule epiteliale poligonale, dispuse în cuiburi și travee celulare, cu punți intercelulare și, în special în tumorile bine diferențiate, cu arii extinse de keratinizare, adesea cu formarea de perle de keratină. Atunci când nu se identifică formarea de keratină, testarea imunohistochimică este recomandată pentru stabilirea diagnosticului de carcinom scuamos non-keratinizant [22].

Carcinomul bazaloid este caracterizat de prezența unor celule de talie mică-medie, cu citoplasmă redusă, organizate în cuiburi cu dispoziție lobulară și cu palisadare nucleară periferică. Adesea rata mitotică este înaltă și la fel și indicele mitotic Ki-67[23].

Neoplasmele neuroendocrine pulmonare se împart în tumori neuroendocrine (NET), ce includ tumorile cu grad scăzut de malignitate numite carcinoide tipice și tumorile cu grad intermediar numite carcinoide atipice și carcinoamele neuroendocrine (NEC), ce includ carcinoamele neuroendocrine cu celule mari și cu celule mici [24].

Tumorile carcinoide sunt tumori neuroendocrine maligne bine-diferențiate citologic și arhitectural. Sunt caracterizate prin pattern de creștere organoid, cu formarea de trabecule, rozete, insule sau plaje de celule uniforme, cu citoplasmă moderată-abundentă eozinofilă și nuclei rotunzi



centrali, cu cromatina fin dispersată, cu aspect de „sare și piper” [24]. Carcinoidul tipic are mitoze reduse (<2 mitoze/ 2 mm^2) și nu prezintă necroză tumorală, spre deosebire de cel atipic [11].

Cel mai frecvent tip de neoplasm neuroendocrin întâlnit la nivel pulmonar este carcinomul cu celule mici. Acesta este o tumoră epitelială cu grad înalt de malignitate, alcătuită din celule rotund-ovalare de talie mică, cu citoplasmă redusă, margini celulare slab definite și nuclei cu cromatină fin dispersată, fără nucleoli, adesea cu aspecte de mulare nucleară reciprocă. Tumora prezintă arii dens celulare, solide, numeroase mitoze atipice și arii extinse de necroză tumorală [25].

Carcinomul neuroendocrin cu celule mari este un carcinom non-microcelular de grad înalt, cu morfologie neuroendocrină și cu mai mult de 10 mitoze pe 2 mm^2 [11]. Din punct de vedere microscopic, acesta prezintă pattern de creștere organoid, în cuiburi și travee celulare, cu palisadare periferică și formare de rozete. Spre deosebire de celelalte tumori neuroendocrine, în cadrul acestui tip, celulele tumorale prezintă nucleoli evidenți de talie medie-mare și citoplasmă abundentă, cu margini celulare evidente. Nucleii pot avea cromatina fin granulară, dar și aspect veziculos. Necroza este prezentă în aproape toate cazurile de carcinom neuroendocrin cu celule mari și la fel și numeroase mitoze atipice (valoare medie 70 mitoze/ 2 mm^2) [26].

Diagnosticul de carcinom pulmonar se realizează pe criterii histologice, dar uneori diferențierea subtipurilor histologice poate fi dificilă și în aceste condiții, imunohistochimia își poate aduce aportul [27]

Adenocarcinomul minim invaziv non-mucinos prezintă pozitivitate pentru markerii pneumocitari TTF1 și Napsin A, iar cel mucinos este negativ pentru markerii pneumocitari și este pozitiv pentru CK20 și HNF4 α [28]

Adenocarcinomul pulmonar invaziv, non-mucinos nu are markeri la care să prezinte pozitivitate în 100% din cazuri, însă cel mai frecvent acesta este pozitiv pentru markerii pneumocitari TTF1 și Napsin A. Dubla pozitivitate pentru TTF1 și p40 caracterizează un adenocarcinom sau un carcinom adenoscuamos [29] CK7 nu este specific pentru adenocarcinomul pulmonar [29]

Pentru stabilirea naturii neuroendocrine și încadrarea tumorii într-una din categoriile: carcinom pulmonar cu celulă mică, carcinom neuroendocrin cu celulă mare sau tumoră carcinoidă,



trebuie demonstrată pozitivitatea pentru cel puțin unul din markerii: Cromogranină A, Sinaptofizină, CD56 (NCAM1) sau INSM1 [30].

Carcinomul pulmonar este o boală cu marcată heterogenitate histologică și moleculară. Acumularea de informații despre modelele moleculare de formare a carcinoamelor pulmonare a dus la clasificarea acestora în subtipuri specifice, bazate pe terapia țintită la care acestea răspund. Astfel, folosirea imunohistochimiei poate reprezenta o metoda simplă de screening [31].

Adenocarcinoamele pulmonare cu rearanjament ALK însumează 4-5% din adenocarcinoamele pulmonare și reprezintă tumori apărute la pacienți tineri, nefumători, cu pozitivitate pentru TTF-1, arhitectură acinară, secreție mucinoasă sau celule cu aspect de “inel cu pecete”[32] Testarea imunohistochimică pentru ALK reprezintă o metodă larg răspândită, ieftină și rapidă și reprezintă o metodă bună de screening pentru detectarea rearanjamentului ALK, alături de hibridizarea in situ (FISH)[33].

ROS1 este un driver oncogenic întâlnit la aproximativ 1-2% din adenocarcinoamele pulmonare [34]. Aceste tumori apar mai frecvent la femeile tinere, nefumătoare și sunt caracterizate de un aspect solid, cu morfologie cribriformă, cu mucus extracelular sau cu celule cu aspect de “inel cu pecete”[35] La fel ca și în cazul ALK, testarea imunohistochimică pentru rearanjamentul ROS1 reprezintă o metoda bună de screening. Aspectul imunohistochimic depinde de partenerii de fuziune ai lui ROS1, astfel carcinoamele cu fuziune CD74-ROS1, care este cea mai frecventă, prezintă imunoreactivitate citoplasmatică globulară pentru ROS1, iar cele cu fuziune EZR-ROS1 prezintă pozitivitate membranară [35].

Mutația EGFR este una dintre cele mai comune mutații driver în adenocarcinomul pulmonar, ea regăsindu-se mai frecvent la pacientele de origine Asiatică, nefumătoare, histologic prezentând frecvent aspect “hobnail”, arhitectură micropapilară și pozitivitate pentru TTF-1[36]. În prezent testarea imunohistochimică nu este recomandată ca metodă de screening, pentru că anticorpii dezvoltati pentru a detecta deleția exonului 19 (clona 6B6) și mutația L858R de pe exonul 21 (clona 43B2) nu s-au dovedit specifici [37].

PD-L1 (CD274) este un modulator imun ce promovează imunosupresia prin legarea de PD1. PD-L1 de pe suprafața celulelor tumorale împiedică acțiunea citotoxică a limfocitelor T atunci când se leagă de PD1 de pe suprafața acestora [38]. În acest sens, terapia anti PD1/PD-L1 inhibă legarea PD-L1 la PD1, permițând atacul mediat imun împotriva celulelor tumorale, iar numeroase



studii au arătat deja beneficiul terapiei imune în prelungirea supraviețuirii pacienților cu cancer pulmonar [39].

II. PARTEA SPECIALĂ -contribuția personală

4. SCOPUL LUCRĂRII

Scopul acestei lucrări este de a realiza o analiză detaliată a uneia dintre cele mai agresive tipuri de tumori - carcinomul pulmonar. Prin efectuarea unei evaluări extensive a caracterelor clinice, demografice, histologice și imunohistochimice, am vrut să identific posibili factori de prognostic, în vederea depistării precoce și a îmbunătățirii supraviețuirii pacienților.

Analiza micromediului tumoral în cancerul pulmonar poate aduce numeroase informații cu implicare directă în practica clinică. Aceste informații pot contribui la diagnosticare, stabilirea prognosticului și al unui tratament personalizat al pacienților.

Evaluarea tipului și a densității celulelor imune, cum ar fi limfocitele T și macrofagele, poate oferi indicii asupra răspunsului imun al organismului la tumoră. Un infiltrat inflamator bogat poate fi asociat cu un prognostic mai bun și o supraviețuire mai lungă și am dorit să analizez această corelație și pe cazurile din România.

Identificarea markerilor imunologici, cum ar fi PD-L1 sau LAG-3, poate ajuta la predicția răspunsului la imunoterapie, oferind informații importante pentru selecția pacienților care ar beneficia de astfel de tratamente.

Analiza detaliată a micromediului tumoral poate descoperi noi proteine și căi de semnalizare care joacă un rol în progresia cancerului pulmonar. Aceste descoperiri pot deveni baza pentru dezvoltarea de noi terapii țintite.

Prin integrarea acestor informații în practica clinică, se poate îmbunătăți semnificativ managementul pacienților cu cancer pulmonar, conducând la tratamente mai eficiente și personalizate, creșterea supraviețuirii și îmbunătățirea calității vieții acestora.

În plus, această lucrare își propune să prezinte o metodă de îmbunătățire a sistemului actual de raportare a cazurilor de cancer pulmonar din România, prin dezvoltarea unei aplicații web menite să ușureze munca clinicienilor, să uniformizeze rezultatele histopatologice și să îmbunătățească stratificarea pacienților și aplicarea cât mai rapidă a tratamentului adecvat.



Rezultatele acestui studiu sunt așteptate să contribuie la o mai bună înțelegere a mecanismelor patologice ale cancerului pulmonar și să ofere baze solide pentru dezvoltarea unor strategii de tratament mai eficiente și personalizate. Înțelegerea interacțiunilor celulare din micromediul tumoral și identificarea unor noi biomarkeri și ținte terapeutice ar putea duce la îmbunătățirea supraviețuirii și calității vieții pacienților cu cancer pulmonar.

5. OBIECTIVELE STUDIULUI

1. Identificarea și evaluarea factorilor de prognostic la cei 160 de pacienți cu cancer pulmonar, cu scopul de a înțelege mai bine influența acestora asupra evoluției bolii și a supraviețuirii.

2. Investigarea relațiilor dintre factorii demografici (vârstă, sex, mediu de proveniență) și cei clinici (stadiul bolii, tipul histologic, comorbidități) și factorii de prognostic, pentru a identifica modele și tendințe relevante.

3. Evaluarea potențialului factorilor demografici și clinici de a contribui la depistarea precoce a cancerului pulmonar și îmbunătățirea supraviețuirii prin intervenții timpurii.

4. Analizarea tipurilor histologice predominante, structura arhitecturală și gradul de diferențiere a celulelor tumorale în cazurile de carcinoame pulmonare.

5. Analiza micromediului tumoral pentru a descoperi interacțiunile celulare ca potențiale ținte terapeutice, care ar putea fi utilizate în tratamente mai eficiente și personalizate pentru pacienții cu cancer pulmonar.

6. Evaluarea distribuției infiltratului inflamator în micromediul tumoral și corelarea acestuia cu prognosticul pacienților, pentru a înțelege impactul răspunsului imun asupra evoluției cancerului pulmonar și pentru a identifica potențiale ținte terapeutice.

7. Crearea unei aplicații web care să îmbunătățească sistemul actual de raportare a cazurilor de cancer pulmonar din România. Aplicația va facilita munca clinicienilor, va uniformiza rezultatele raportate și va contribui la o stratificare mai precisă a pacienților, permițând aplicarea cât mai rapidă a tratamentului adecvat.



6. MATERIALE ȘI METODE

Loturile de studiu au fost selectate din registrele histopatologice ale Serviciului de Anatomie Patologică al Spitalului Universitar de Urgență din București. Preparatele histologice examinate au provenit atât din biopsii bronhopulmonare cât și din piese de rezecție chirurgicală.

S-a realizat examinarea macroscopică și s-au prelevat fragmente pentru examinarea microscopică, folosind ca principală metodă de lucru ORDINUL NR. 1217/2010 privind aprobarea Ghidurilor de practică medicală pentru specialitatea anatomie patologică, Anexele 1 și 3, precum și protocolul de examinare a specimenelor de la pacienții cu carcinom pulmonar primar non-microcelular, carcinom pulmonar cu celule mici sau tumori carcinoide pulmonare, al Colegiului Patologilor Americani (CAP).

După realizarea examenului macroscopic, prelevarea fragmentelor reprezentative, prelucrarea acestora în vederea obținerii secțiunilor histologice și colorarea la colorație uzuală sau imunohistochimică, a urmat evaluarea microscopică și un rezultat histopatologic a fost înregistrat în baza de date electronică a Spitalului Universitar de Urgență din București.

Datele acestui studiu au fost colectate din baza de date a Spitalului Universitar de Urgență din București, foile de observație clinică ale pacienților internați în Departamentele de Chirurgie Toracică și Oncologie ale Spitalului Universitar de Urgență București și din registrele cu rezultate histopatologice ale departamentului de Anatomie Patologică al Spitalului Universitar de Urgență București.

Achiziția de imagini s-a realizat cu ajutorul microscopului Leica DM750 dotat cu camera de preluat imagini Leica ICC50 HD, din cadrul spitalului Universitar de Urgență din București și al celui Olympus BX43, dotat cu camera de înaltă definiție Olympus XC50, de la Centrul de Excelență în Medicină Translațională, Fundeni, București.

Imaginile digitale ale preparatelor histologice au fost realizate cu ajutorul scannerului de la Spitalul Clinic Județean de Urgență din Constanța, din cadrul Serviciului clinic de Anatomie Patologică.

Datele clinico-morfologice, histopatologice și imunohistochimice au fost înregistrate într-o baza de date electronică, utilizând platforma Microsoft Excel și parte din ele au fost interpretate în cadrul aceleiași platforme. Evaluarea și interpretarea statistică a datelor a fost realizată cu



ajutorul platformei GraphPad Prism V.10.2.0 software (GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA, www.graphpad.com).

7. REZULTATE

Lotul analizat a inclus 160 de pacienți tratați în departamentul de Chirurgie Toracică a Spitalului Universitar de Urgență din București și diagnosticați în cadrul Departamentului de Anatomie Patologică a Spitalului Universitar de Urgență din București, în perioada Aprilie 2016 – Octombrie 2020.

Analiza descriptivă a lotului studiat a relevat că majoritatea pacienților au fost bărbați, intervalul de vârstă cu incidența maximă fiind 61-70 ani pentru ambele sexe, majoritatea pacienților provenind din mediul urban, din București și din județele învecinate.

Intervențiile realizate în scopul obținerii fragmentelor tisulare au fost reprezentate în primul rând de lobectomii, biopsii excizionale (rezeccii atipice subsegmentare), pneumectomii, segmentectomii și puncții biopsii.

Cel mai frecvent s-au identificat leziuni tumorale la nivelul plămânului drept, diametrele tumorale variind între 0,8 cm și 16,1 cm, cu o medie de 4,31 cm.

Majoritatea cazurilor au avut invazie locoregională, limfoganglionară, pleurală, mediastinală, costală, parietală, pericardică, diafragmatică, iar dintre determinările secundare la distanță, cele mai frecvent întâlnite au fost cele de la nivelul sistemului nervos central (6% determinări cerebrale sau cerebeloase), urmate de cele hepatice (3%).

Majoritatea cancerelor pulmonare au fost diagnosticate în stadii avansate, la momentul diagnosticului stadiul IV fiind cel mai frecvent stabilit, urmat de stadiul I, iar tipurile histologice au fost, în ordine descrescătoare a frecvenței, adenocarcinom, carcinom scuamos, tumori neuroendocrine, cele mai rare fiind carcinoamele fără linie evidentă de diferențiere, carcinoamele adenoscuamoase și cele mucoepidermoide.

Adenocarcinoamele au fost preponderent de tip acinar (54%), urmate de cele NOS (*not otherwise specified* - 22%) și de cele solide (10%). Adenocarcinoamele mucinoase au constituit 7% din totalul adenocarcinoamelor, alte 3% din cazuri prezentând o componentă mucinoasă mai mare de 10% din suprafața tumorală. 59% dintre cazurile de adenocarcinom au fost confirmate prin testare imunohistochimică, la momentul diagnosticului.



Carcinoamele scuamoase au fost în două treimi din cazuri de tip nekeratinizant, iar dintre acestea doar trei cazuri au avut și confirmare imunohistochimică.

Principalele subtipuri de neoplasme neuroendocrine întâlnite în cohorta studiată au fost reprezentate în două treimi din cazuri de carcinoamele pulmonare cu celule mici, urmate de cele cu celulă mare și în final de tumorile carcinoide tipice și atipice.

Dintre pacienții analizați doar 27% erau în viață în Mai 2024, având supraviețuire cuprinsă între 7 ani și 6 luni și 3 ani și 7 luni. S-a observat o supraviețuire superioară în rândul femeilor, acestea fiind diagnosticate cel mai frecvent în stadiu tumoral incipient, comparativ cu bărbații.

Analiza micromediului tumoral în adenocarcinomul pulmonar

Am analizat suplimentar 50 de cazuri de adenocarcinom pulmonar din cohorta inițială și prin metoda de Tissue Array am obținut trei blocuri receptoare compuse din fragmente prelevate de la toate cele 50 de cazuri.

Prelevarea s-a realizat la Centrul de Excelență în Medicină Translațională, utilizând aparatul Tissue Arrayer MiniCore® 3 și software-ul aferent acestuia. Blocurile de parafină obținute au fost secționare în scopul examinării la colorație uzuală și prin metode imunohistochimice.

Secțiunile cu grosime de 4 microni obținute din blocurile receptoare au fost colorate pentru markerii imunohistochimici CD3 (clona EP41), CD4 (clona EP204), CD8 (clona SP16), CD68 (clona Kp-1), CD163 (clona EP324), PD-L1 (clona Cal10), PD1 (clona NAT105) și LAG-3 (clona 17B4).

În lotul studiat s-a evidențiat prezența unei corelații cu semnificație statistică între densitatea limfocitelor CD4+ și a celor CD8+, indicând o posibilă dependență reciprocă și susținând interacțiunea acestora în mediul tumoral, în reglarea răspunsului imun împotriva celulelor tumorale. Raportul CD4/CD8 crescut, folosit ca măsură a capacității tumorale de a evita acțiunea distructivă a sistemului imunitar, a fost observat și în cazul adenocarcinoamelor pulmonare evaluate.

Analiza histiocitelor intratumorale a arătat o distribuție non-Gaussiană a densităților celulelor pozitive pentru CD68 și pentru CD163 și o corelație cu semnificație statistică între densitatea celulelor CD68+ și diametrul tumoral, ce poate indica un rol al inflamației și al macrofagelor în creșterea tumorală.



De asemenea, corelația identificată între densitatea celulelor CD68+ și indicele de proliferare Ki-67 oferă informații importante despre relația macrofagelor cu proliferarea tumorală. Relația pozitivă dintre CD68 și Ki-67 sugerează că macrofagele CD68+ pot contribui la creșterea și agresivitatea adenocarcinoamelor pulmonare prin promovarea proliferării celulare, dar și că acestea ar putea fi recrutate cu precădere în tumorile mai agresive (cu indice Ki-67 mare), acolo unde apare liza mai frecventă a celulelor tumorale și eliberare mai pronunțată de antigene tumorale.

În ceea ce privește evaluarea markerilor celulelor imune, s-au identificat corelații semnificative între densitățile celulelor CD4+ și a celor CD68+ și CD163+, precum și între CD8 și CD163. Astfel, o corelație semnificativă între densitatea limfocitelor T helper (CD4+) și a macrofagelor (CD68+) sugerează o interacțiune între aceste celule imune. Macrofagele CD68+ pot fi implicate în recrutarea și activarea limfocitelor T helper, ceea ce poate influența răspunsul imun în mediul tumoral. Corelația semnificativă între CD4+ și CD163+ sugerează o interacțiune între celulele T helper și macrofagele imunosupresoare, indicând un posibil rol al limfocitelor T în medierea activității macrofagelor M2 în tumori.

CD8+ sunt celule T citotoxice care joacă un rol crucial în răspunsul imun antitumoral. O corelație semnificativă și puternică între CD8+ și CD163+ sugerează că macrofagele M2 pot influența sau interacționa cu celulele T citotoxice, posibil suprimându-le activitatea și contribuind la evaziunea imună a tumorii.

Aceste corelații indică interacțiuni importante între diferitele componente imune din mediul tumoral. În mod specific, relațiile semnificative dintre limfocitele T (CD4+ și CD8+) și macrofage (CD68+ și CD163+) sugerează că macrofagele pot influența în mod semnificativ răspunsul imun în tumoră, fie prin recrutarea și activarea limfocitelor T, fie prin suprimarea activității lor.

Evaluarea mecanismelor de evitare a răspunsului imun prin expresia proteinelor PD-L1, PD1 și LAG-3 a dus la identificarea unei corelații semnificative între expresia PD-L1 și LAG-3, ce poate sugera că aceste două proteine sunt co-reglate sau că au un rol sinergic în mediul tumoral, cu interacțiune funcțională între ele în contextul suprimării răspunsului imun antitumoral.

O corelație cu semnificație înaltă a fost identificată și între LAG-3 și CD163, sugerând că în micromediul tumoral, prezența LAG-3 este asociată cu prezența macrofagelor de tip M2 (CD163+). Acest lucru poate indica faptul că ambele componente contribuie la un mediu tumoral



imunosupresor. Astfel, macrofagele CD163+ și celulele care exprimă LAG-3 ar putea lucra sinergic pentru a suprima răspunsul imun antitumoral, favorizând progresia tumorii.

În plus, rezultatele au arătat corelații semnificative statistic între expresia PD1 și populațiile de celule CD4+ și CD68+. Limfocitele T helper CD4+ sunt esențiale în medierea și reglarea răspunsului imun. Corelația între PD1 și CD4+ sugerează că în micromediul tumoral există o interacțiune semnificativă între aceste celule și expresia PD1, ceea ce ar putea contribui la imunosupresia indusă de proliferarea tumorală. Corelația între PD1 și CD68+ sugerează că macrofagele, care joacă un rol crucial în imunitatea înăscută și adaptativă, pot avea o influență semnificativă asupra expresiei PD1.

S-a identificat o corelație semnificativă din punct de vedere statistic între vârsta pacienților și expresia PD-L1. S-a observat că expresiile PD-L1 scad odată cu vârsta și acest lucru poate însemna că tumorile la pacienții mai în vârstă sunt mai puțin capabile să evadeze răspunsul imun prin intermediul acestei căi specifice. Acest lucru ar putea influența răspunsul la terapii care vizează inhibitorii punctelor de control imun (*checkpoint inhibitors*).

Dintre markerii limfocitari și cei histiocitari, s-a observat că doar densitatea limfocitelor CD4+ a prezentat o corelație semnificativă negativă cu vârsta pacienților. Scăderea densității limfocitelor CD4+ odată cu înaintarea în vârstă poate indica o modificare a funcției sistemului imunitar legată de îmbătrânire. Modificările în densitatea limfocitelor CD4+ în funcție de vârstă pot influența capacitatea organismului de a răspunde la tumori și de a controla progresia acestora.

Analiza distribuției spațiale a infiltratului inflamator din micromediul tumoral

Analiza s-a realizat pe lotul de 50 de pacienți cu adenocarcinom pulmonar descris anterior.

În această etapă a studiului am analizat distribuția spațială a infiltratului inflamator la nivelul micromediului tumoral din două regiuni ale tumorii – din centrul tumoral și din marginea tumorii. Pentru limitarea variabilelor, am ales să analizez corelațiile prezente între diversele celule inflamatorii, densitățile lor din mijlocul și periferia tumorală, raportată la două categorii de tumori: adenocarcinoame acinare și non-acinare.

Pentru adenocarcinoamele acinare, s-au identificat corelații pozitive moderate și semnificative între expresiile CD8+, CD3+, CD68+ și CD163+ din mijlocul și de la marginea



tumorii, ceea ce ar putea sugera că distribuția acestor celule este relativ uniformă între mijlocul și marginea tumorii, cu un răspuns imun coordonat și eficient în aceste tumori.

Diferențele în corelația dintre celulele inflamatorii din mijlocul și de la marginea tumorii între adenocarcinoamele acinare și non-acinare sugerează că tipul histologic al tumorii poate influența distribuția și răspunsul imun. Astfel, lipsa unei corelații semnificative în adenocarcinoamele non-acinare poate indica o variabilitate mai mare în distribuția celulelor inflamatorii sau o diferență în modul în care aceste celule infiltrează tumora.

Aceste rezultate subliniază importanța caracterizării precise a infiltratului imun în diferitele tipuri histologice de adenocarcinoame pulmonare pentru a înțelege mai bine mecanismele răspunsului imun antitumoral și pentru a dezvolta strategii terapeutice personalizate.

În ceea ce privește evaluarea expresiilor markerilor în centrul tumoral și marginea tumorală și corelarea acestora cu vârsta pacienților, rezultatele indică o corelare semnificativă între vârsta pacienților și expresia markerilor inflamatori (CD4+ și CD68) în centrul tumoral, dar nu și la periferia tumorii. Aceasta sugerează că îmbătrânirea afectează în mod diferit compartimentele tumorii. Micromediul mai advers din centrul tumoral, caracterizat prin hipoxie și necroză, poate accentua efectele imunosenescenței, ducând la o scădere mai pronunțată a densității celulelor imune la pacienții vârstnici. În contrast, la periferia tumorii, condițiile mai favorabile pot menține densitatea celulelor imune relativ constantă, indiferent de vârsta pacientului.

Analiza prin patologie digitală a tumorilor pulmonare maligne

În studiul de față am analizat prin intermediul patologiei digitale caracterele histologice tumorale și factorii de prognostic identificați la nivelul carcinoamelor pulmonare a 40 de pacienți din lotul studiat.

S-a remarcat o scădere a infiltratului inflamator odată cu creșterea diametrului tumoral, în tumorile mari fiind mai frecvent întâlnită o stromă tumorală fibroblastică, dens celulară. Această stromă poate oferi suport structural și nutrițional mai bun pentru celulele tumorale, favorizând creșterea și extinderea tumorii. În schimb, stroma colagenoasă este dominată de fibre de colagen dens organizate, care pot crea o barieră fizică pentru proliferarea și migrarea celulelor tumorale. O densitate celulară mai mică și o activitate de remodelare mai scăzută pot limita expansiunea tumorală în acest tip de stroma.



Factorii de prognostic analizați au fost extensia prin spațiile aeriene, necroza și invazia vasculară. STAS se referă la răspândirea celulelor tumorale prin spațiile aeriene alveolare adiacente tumorii primare, fără să fie conectate prin intermediul stromei tumorale sau vaselor sanguine/limfatice. Această caracteristică morfologică a fost asociată cu un prognostic mai slab și recurență mai mare după rezecția chirurgicală a tumorii. În studiul de față s-a remarcat prezența acestui tip de invazie doar în rândul adenocarcinoamelor, cel mai frecvent în subtipul mucinos și în adenocarcinoamele acinare cu o importantă componentă micropapilară.

Prezența necrozei tumorale este asociată cu dimensiuni tumorale mai mari. Necroza apare adesea în tumori mari, unde aprovizionarea cu sânge este insuficientă pentru a hrăni întreaga masă tumorală, ducând la moarte celulară în mijlocul tumorii. Tumorile mari pot crea un micromediu hipoxic, favorizând necroza, acest fapt putând fi un indicator al agresivității tumorale.

Invazia limfovasculară, indicată prin prezența celulelor tumorale în vasele limfatice sau sanguine, este un factor prognostic negativ asociat cu un risc crescut de metastazare și recurență. Diferențele semnificative în variantele dimensiunilor tumorale sugerează că tumorile cu invazie limfovasculară au o variabilitate mai mare a dimensiunilor, ceea ce poate reflecta o heterogenitate tumorală crescută și un comportament biologic variabil.

În ceea ce privește patternul de creștere tumoral, s-a observat că patternul solid este de mai mult de două ori mai frecvent întâlnit în rândul pacienților decedați decât în rândul celor în viață, acest lucru sugerând o corelație puternică între acest tip de creștere tumorală și un prognostic nefavorabil. Tumorile cu pattern solid tind să fie mai agresive, având o rată mai mare de proliferare și invazie, ceea ce poate explica mortalitatea crescută în rândul acestor pacienți.

PathAdapt – un dispozitiv de raportare a tumorilor pulmonare pentru patologii din România

Ne-am propus să realizăm un mod unitar de raportare histopatologică, bazat pe ultimele ghiduri europene și americane în vigoare, care să vină în ajutorul medicilor anatomopatologi, dar și a colegilor din celelalte specialități conexe.

Aplicația propusă va fi intuitivă, ușor de folosit și ușor de accesat pentru că va putea fi folosită în orice browser mobil sau web, iar rezultatele obținute vor fi uniformizate și complete, excluzând astfel variabilitatea de raportare. Avantajul major o să fie pentru medicul anatomopatolog care va alege din opțiunile disponibile și va introduce unele valori numerice,



urmând ca aplicația să compună un rezultat ușor de înțeles și cuprinzător, salvând astfel timpul necesar verificărilor ghidurilor în vigoare și a formulărilor uzuale. Această aplicație vine cel mai mult în ajutorul pacienților care vor fi diagnosticați conform standardelor în vigoare, într-un mod uniformizat și detaliat, în speranța că astfel vom putea contribui la îmbunătățirea tratamentului și a supraviețuirii acestora.

8. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

Studiul de față oferă o descriere detaliată a aspectelor clinico-morfologice ale diferitelor tipuri de tumori pulmonare maligne, contribuind la o mai bună înțelegere a caracteristicilor acestor leziuni. Analiza demografică a pacienților, inclusiv distribuția pe sexe, vârsta la diagnostic și proveniența pacienților, oferă informații valoroase despre epidemiologia cancerului pulmonar în România.

Identificarea celor mai frecvente simptome și intervenții chirurgicale (lobectomii și biopsii excizionale) la pacienții cu cancer pulmonar poate ajuta la optimizarea strategiilor de diagnostic și tratament. O mai bună înțelegere a progresiei bolii poate fi realizată prin detalierea distribuției stadiilor clinice ale tumorilor și a tipurilor de metastaze întâlnite.

Studiul a adus contribuții importante la înțelegerea micromediului tumoral în cancerul pulmonar prin analiza imunohistochimică a markerilor limfocitari și histiocitari, precum și a mecanismelor de evitare a răspunsului imun.

S-a evidențiat o corelație semnificativă între celulele CD4+ și CD8+, sugerând o interacțiune strânsă între aceste subpopulații de limfocite T în context tumoral și un raport CD4/CD8 adesea supraunitar.

Corelația semnificativă între expresia CD68 și CD163 indică o asociere între macrofagele M1 și M2 în tumorile pulmonare, CD68+ corelându-se cu diametrul tumoral și indicele Ki-67, sugerând o legătură între prezența macrofagelor și rata de proliferare tumorală.

Mecanismele de evitare a răspunsului imun au fost evaluate prin expresia imunohistochimică pentru PD1, PD-L1 și LAG-3 și s-au identificat corelații semnificative între PD-L1 și LAG-3 și între PD1 și CD4 și CD68, evidențiind complexitatea interacțiunilor dintre celulele imune și celulele tumorale, prin mecanismele de evitare a răspunsului imun.



În ceea ce privește distribuția spațială a celulelor inflamatorii în micromediul tumoral, limfocitele CD8+ au fost mai puțin frecvente în centrul tumorilor comparativ cu celulele CD4+ și CD163+, acest fapt putând fi consecința unei epuizări funcționale a procesului imun prin mecanismele de evitare a răspunsului imun.

Corelațiile semnificative în adenocarcinoamele acinare între celulele CD8+, CD3+, CD68+ și CD163+ din centrul și marginea tumorilor sugerează că, în adenocarcinoamele acinare, prezența celulelor inflamatorii într-o regiune a tumorii este relativ bine reflectată și în cealaltă regiune. Acest lucru poate indica un răspuns imun coordonat și distribuit uniform în întreaga tumoră.

Lipsa unei corelații semnificative în cazul adenocarcinoamelor non-acinare sugerează că în aceste tumori răspunsul imun poate fi mai heterogen sau mai localizat. Aceasta ar putea indica o penetrare mai inefficientă a celulelor imune în anumite părți ale tumorii, ceea ce ar putea influența negativ eficiența răspunsului imun antitumoral.

Prin analiza digitală s-a observat că tumorile cu dimensiuni mari au fost asociate cu un infiltrat inflamator redus și o stromă dens celulară, de tip fibroblastic, iar necroza și invazia limfovasculară au fost mai frecvente în tumorile cu atipii citonucleare moderate și înalte. Tumorile cu morfologie micropapilară au prezentat cel mai frecvent invazie prin spațiile aeriene, iar cele cu pattern solid de creștere și cu factori prognostici negativi, precum necroza și invazia limfovasculară, s-au regăsit mai frecvent la pacienții decedați decât la cei care erau în viață în Mai 2024.

Aceste descoperiri contribuie la o mai bună înțelegere a interacțiunilor celulare și mecanismelor de evitare a răspunsului imun în cancerul pulmonar, oferind perspective valoroase pentru dezvoltarea unor strategii terapeutice mai eficiente.

Evaluarea supraviețuirii pacienților în funcție de diverse variabile (vârsta, diametrul tumoral, markerii imunohistochimici) contribuie la identificarea factorilor prognostici relevanți pentru cancerul pulmonar.

Introducerea unui prototip de aplicație pentru raportarea histopatologică standardizată reprezintă o inovație care poate îmbunătăți calitatea și eficiența diagnosticului histopatologic.

Aceste contribuții aduc informații noi și relevante în domeniul cancerului pulmonar, îmbunătățind cunoștințele existente și oferind baze pentru viitoare cercetări.



Bibliografie selectivă

- [1] Locicero J, Feins RH, Colson YL, Bell MA, Rocco G. Shield's General Thoracic Surgery 8th Edition. n.d.
- [2] Ross MH, Pawlina W. Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology. n.d.
- [3] Ahmed R, Chundriger Q, Ahmed R, Chundriger · Q. Histopathology of Respiratory System and Mediastinum. Atlas of Diagnostic and Predictive Histopathology 2020:465–89. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1220-9_15.
- [4] Patwa A, Shah A. Anatomy and physiology of respiratory system relevant to anaesthesia. Indian J Anaesth 2015;59:533–41. <https://doi.org/10.4103/0019-5049.165849>.
- [5] Sainz de Aja J, Dost AFM, Kim CF. Alveolar progenitor cells and the origin of lung cancer. J Intern Med 2021;289:629–35. <https://doi.org/10.1111/joim.13201>.
- [6] Atkinson JJ, Adair-Kirk TL, Kelley DG, deMello D, Senior RM. Clara cell adhesion and migration to extracellular matrix. Respir Res 2008;9. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-9-1>.
- [7] Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2015;65:87–108. <https://doi.org/10.3322/caac.21262>.
- [8] Ministerul Sanatatii. ANALIZA DE SITUAȚIE - Ziua nationala fara tutun 2019. n.d.
- [9] The Global Cancer Observatory. Romania. n.d.
- [10] Alexander M, Kim SY, Cheng H. Update 2020: Management of Non-Small Cell Lung Cancer. Lung 2020;198:897–907. <https://doi.org/10.1007/s00408-020-00407-5>.
- [11] WHO Classification of Tumours Editorial Board. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic tumours. vol. 5. 5th ed. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2021.
- [12] Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, et al. STATE OF THE ART: CONCISE REVIEW International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. 2011.
- [13] Ikeda N, Usuda J, Kato H, Ishizumi T, Ichinose S, Otani K, et al. New aspects of photodynamic therapy for central type early stage lung cancer. Lasers Surg Med 2011;43:749–54. <https://doi.org/10.1002/lsm.21091>.



- [14] Reuling EMBP, Dickhoff C, Plaisier PW, Bonjer HJ, Daniels JMA. Endobronchial and surgical treatment of pulmonary carcinoid tumors: A systematic literature review. *Lung Cancer* 2019;134:85–95. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.04.016>.
- [15] Lee KW, Lee Y, Oh SW, Jin KN, Goo JM. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: CT and FDG PET findings. *Eur J Radiol* 2015;84:2332–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2015.07.033>.
- [16] Travis WD. Pathology and Diagnosis of Neuroendocrine Tumors: Lung Neuroendocrine. *Thorac Surg Clin* 2014;24:257–66. <https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2014.04.001>.
- [17] Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, et al. STATE OF THE ART: CONCISE REVIEW International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. 2011.
- [18] Maeshima AM, Tochigi N, Yoshida A, Asamura H, Tsuta K, Tsuda H. Histological Scoring for Small Lung Adenocarcinomas 2 cm or Less in Diameter A Reliable Prognostic Indicator. 2010.
- [19] Geles A, Gruber-Moesenbacher U, Quehenberger F, Manzl C, Al Effah M, Grygar E, et al. Pulmonary mucinous adenocarcinomas: architectural patterns in correlation with genetic changes, prognosis and survival. *Virchows Archiv* 2015;467:675–86. <https://doi.org/10.1007/s00428-015-1852-2>.
- [20] Otsuka S, Hiraoka K, Iwashiro N, Kimura N, Ohara M. Mixed invasive mucinous and non-mucinous adenocarcinoma of the lung with hematogenous metastases to multiple organs. *Respir Med Case Rep* 2024;49. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2024.102033>.
- [21] Nicholson AG, Tsao MS, Beasley MB, Borczuk AC, Brambilla E, Cooper WA, et al. The 2021 WHO Classification of Lung Tumors: Impact of Advances Since 2015. *Journal of Thoracic Oncology* 2022;17:362–87. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.11.003>.
- [22] Knollmann-Ritschel BEC, Regula DP, Borowitz MJ, Conran R, Prystowsky MB. Pathology Competencies for Medical Education and Educational Cases. *Acad Pathol* 2017;4. <https://doi.org/10.1177/2374289517715040>.
- [23] Kim JH, Yoon HJ, Lee E, Kim EJ. Basaloid squamous cell carcinoma of the lung: Two case reports with CT imaging findings. *Journal of the Korean Society of Radiology* 2020;81:746–52. <https://doi.org/10.3348/JKSR.2020.81.3.746>.



- [24] Rekhtman N. Lung neuroendocrine neoplasms: recent progress and persistent challenges. *Modern Pathology* 2022;35:36–50. <https://doi.org/10.1038/s41379-021-00943-2>.
- [25] Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Modern Pathology* 2012;25:18–30. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.150>.
- [26] Andrini E, Marchese PV, De Biase D, Mosconi C, Siepe G, Panzuto F, et al. Large Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Lung: Current Understanding and Challenges. *J Clin Med* 2022;11. <https://doi.org/10.3390/jcm11051461>.
- [27] Inamura K. Update on immunohistochemistry for the diagnosis of lung cancer. *Cancers (Basel)* 2018;10. <https://doi.org/10.3390/cancers10030072>.
- [28] Matsubara D, Soda M, Yoshimoto T, Amano Y, Sakuma Y, Yamato A, et al. Inactivating mutations and hypermethylation of the NKX2-1/TTF-1 gene in non-terminal respiratory unit-type lung adenocarcinomas. *Cancer Sci* 2017;108:1888–96. <https://doi.org/10.1111/cas.13313>.
- [29] Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, Warth A, Russell PA, Lantuejoul S, et al. Best Practices Recommendations for Diagnostic Immunohistochemistry in Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology* 2019;14:377–407. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.12.005>.
- [30] Goto Y, de Silva MG, Toscani A, Prabhakar BS, Notkins AL, Lan MS. A novel human insulinoma-associated cDNA, IA-1, encodes a protein with “zinc-finger” DNA-binding motifs. *Journal of Biological Chemistry* 1992;267. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)42173-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)42173-4).
- [31] Shaw AT, Hsu PP, Awad MM, Engelman JA. Tyrosine kinase gene rearrangements in epithelial malignancies. *Nat Rev Cancer* 2013;13. <https://doi.org/10.1038/nrc3612>.
- [32] van der Wekken AJ, Pelgrim R, T Hart N, Werner N, Mastik MF, Hendriks L, et al. Dichotomous ALK-IHC is a better predictor for ALK inhibition outcome than traditional ALK-FISH in advanced non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2017;23. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1631>.
- [33] Hofman P. ALK in non-small cell lung cancer (NSCLC) pathobiology, epidemiology, detection from tumor tissue and algorithm diagnosis in a daily practice. *Cancers (Basel)* 2017;9. <https://doi.org/10.3390/cancers9080107>.



- [34] Bergethon K, Shaw AT, Ou SHI, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *Journal of Clinical Oncology* 2012;30. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.35.6345>.
- [35] Yoshida A, Tsuta K, Wakai S, Arai Y, Asamura H, Shibata T, et al. Immunohistochemical detection of ROS1 is useful for identifying ROS1 rearrangements in lung cancers. *Modern Pathology* 2014;27. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2013.192>.
- [36] Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba II, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 2005;97. <https://doi.org/10.1093/jnci/dji055>.
- [37] Yu J, Kane S, Wu J, Benedettini E, Li D, Reeves C, et al. Mutation-specific antibodies for the detection of EGFR mutations in non-small-cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2009;15. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-2739>.
- [38] Simon S, Labarriere N. PD-1 expression on tumor-specific T cells: Friend or foe for immunotherapy? *Oncoimmunology* 2018;7. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1364828>.
- [39] Horn L, Spigel DR, Vokes EE, Holgado E, Ready N, Steins M, et al. Nivolumab versus docetaxel in previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer: Two-year outcomes from two randomized, open-label, phase III Trials (CheckMate 017 and CheckMate 057). *Journal of Clinical Oncology* 2017;35. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.3062>.



Lista lucrărilor științifice publicate

Almarii F, Sajin M, Simion G, Dima SO, Herlea V. Analyzing the Spatial Distribution of Immune Cells in Lung Adenocarcinoma. *Journal of Personalized Medicine*. 2024; 14(9):925. <https://doi.org/10.3390/jpm14090925> (Capitolul 7)

Neacșu F, Vârban AȘ, Simion G, Șurghie R, Pătrașcu OM, Sajin M, Dumitru M, Vrînceanu D. Lung cancer mimickers - a case series of seven patients and review of the literature. *Rom J Morphol Embryol*. 2021 Jul-Sep;62(3):697-704. <http://doi:10.47162/RJME.62.3.06>. PMID: 35263397; PMCID: PMC9019611. (Capitolul 3)

Sajin M, **Almarii F**, Gaianu IE, Simion G (2022) Lung Abscess as a Complication of SARSCoV-2 Infection Associated with Mucormycosis in a Romanian Patient. *Int J Pathol Clin Res* 8:126. <https://doi.org/10.23937/2469-5807/1510126> (Capitolul 3)