



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



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

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

**ASPECTE MORFOLOGICE ȘI CONSTELAȚIA
ANTIGENICĂ ÎN CARCINOAMELE
BRONHOPULMONARE NON-MICROCELULARE
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. MARIANA COSTACHE

Student-doctorand:

**ANGELA-ȘTEFANIA VÂRBAN
(căsătorită MARGHESCU)**

2025

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.umfd.ro

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

Lista cu lucrările științifice publicate.....	3
Lista cu abrevieri și simboluri.....	5
Introducere.....	8
I. PARTEA GENERALĂ.....	11
1. SITUAȚIA EPIDEMIOLOGICĂ ȘI SPECTRUL MORFOLOGIC AL CANCERULUI BRONHOPULMONAR	12
1.1. Situația epidemiologică a cancerului bronhopulmonar	12
1.1.1. Situația epidemiologică a cancerului bronhopulmonar la nivel global	12
1.1.2. Situația epidemiologică a cancerului bronhopulmonar în România	12
1.2. Spectrul morfologic al cancerului bronhopulmonar.....	13
2. ETIOPATOGENEZA CANCERULUI BRONHOPULMONAR	18
2.1. Rolul factorilor de mediu în etiopatogeneza cancerului bronhopulmonar	18
2.2. Aspecte moleculare și rolul acestora în etiopatogenia carcinoamelor bronhopulmonare	20
II. PARTEA ORIGINALĂ.....	32
3. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE	33
4. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII	34
5. STUDIUL EPIDEMIOLOGIC ȘI MORFOLOGIC AL CARCINOAMELOR PRIMITIVE BRONHOPULMONARE. ASPECTE PRIVIND IMPACTUL PANDEMIEI SARS-CoV2.....	35
5.1. Introducere.....	35
5.2. Material și metodă.....	35
5.3. Rezultate.....	36
5.4. Discuții.....	79
6. STUDIUL IMUNOHISTOCHEMIC ȘI MOLECULAR AL CARCINOAMELOR PRIMITIVE BRONHOPULMONARE	85
6.1. Introducere.....	85
6.2. Material și metodă.....	85
6.3. Rezultate.....	86
6.4. Discuții.....	97

7. STUDIUL PRIVIND ASPECTELE MORFOLOGICE CU IMPLICAȚII PROGNOSTICE ÎN CARCINOAMELE BRONHOPULMONARE CU CELULĂ SCUAMOASĂ	100
7.1. Introducere.....	100
7.2. Material și metodă.....	100
7.3. Rezultate.....	105
7.4. Discuții.....	127
8. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	129
8.1. Concluzii.....	129
8.2. Contribuții personale.....	131
Referințe bibliografice.....	133
Anexe.....	160

1. PROBLEMA FUNDAMENTALĂ

Cancerul pulmonar reprezintă un domeniu de mare interes pentru lumea științifică internațională, fiind situat în topul cauzelor de morbiditate și mortalitate în întreaga lume.

Originea acestor neoplazii este cel mai adesea epitelială (carcinoame). Pentru niciun alt cancer dimensiunea celulelor neoplazice nu este atât de importantă precum este în această afecțiune, unde diagnosticul începe întotdeauna prin scindarea leziunilor în carcinoame bronhopulmonare microcelulare - 15%, respectiv non-microcelulare (NSCLC) - 85% [1, 2]. Având în vedere ponderea disproporționată a acestor subtipuri, studiul de față își propune să evalueze proliferările de tip NSCLC, acestea punând cea mai mare presiune pe sistemul medical.

Lucrarea de față evidențiază situația epidemiologică (la nivel global și în România), precum și aspectele morfologice ale cancerului pulmonar, punctând evoluția clasificărilor conform World Health Organisation (WHO). *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) a raportat faptul că în anul 2022 pe primul loc în rândul afecțiunilor oncologice, atât ca incidență (12,4%), cât și ca mortalitate (18,7%) s-a situat cancerul bronhopulmonar, cu 2 480 675 cazuri nou diagnosticate și 1 817 469 decese, indiferent de gen și vârstă. În România, incidența cancerului bronhopulmonar a fost de 11 716 cazuri (11,2%), fiind situat pe locul trei după tumorile maligne colorectale și cele mamare. Ca mortalitate, el ocupă primul loc, cu 10 530 decese (18,7%) [2].

Morfologia carcinoamelor pulmonare este extrem de complexă, iar clasificarea histopatologică a acestora reprezintă un proces dinamic, revizuit periodic. Acest aspect reflectă pe de o parte impactul pe care îl are asupra noastră mediul de viață, precum și reclasificările - ca urmare a permanentei achiziții de noi informații științifice referitoare la genetica și histopatogeneza proceselor tumorale maligne [1].

Un aspect extrem de controversat îl reprezintă stabilirea gradului de diferențiere (G) al unei tumori. Ediția a 5-a a WHO aduce ca element de noutate stabilirea unor criterii clare pe baza cărora adenocarcinoamele (ADK) pulmonare să poată fi gradate, luând în considerare strict arhitectura elementelor neoplazice. În acest sens, au fost considerate patternuri de grad înalt: micropapilar, solid și glandular complex (incluzând aici aspectul cribriform) [1]. ADK bine diferențiate (G1) sunt considerate cele cu pattern predominant lepidic (în absența/prezența a mai puțin de 20% pattern de grad înalt). Tumorile moderat diferențiate (G2) sunt cele cu pattern predominant acinar sau papilar (în absența/prezența a

mai puțin de 20% pattern de grad înalt). Orice tumoră care prezintă cel puțin 20% pattern de grad înalt este încadrată drept slab diferențiată (G3) [1].

Lucrurile sunt mult mai complicate în cazul carcinoamelor cu celulă scuamoasă (SCC), unde nu există un sistem uniform, standardizat, de gradare nici pentru tumorile cu localizare pulmonară, nici pentru cele cu alte localizări (tegument, esofag, anus, vagin etc). O multitudine de studii au fost publicate în acest sens, însă lumea științifică nu a ajuns încă la un consens. În practică, cei mai mulți specialiști iau în considerare pleomorfismul nuclear și prezența keratinizării, însă aprecierea este extrem de subiectivă și nereproductibilă [1, 3-7].

Un studiu condus de M. Jesinghaus a propus o metodă alternativă de gradare a SCC, denumită *grad de disociere celulară*. Această abordare integrează atât parametri cantitativi, precum prezența și extensia fenomenului de „budding” tumoral (celule tumorale dispuse individual sau în agregate de până la cinci elemente, la frontul de invazie tumorală), cât și parametri calitativi, cum ar fi dimensiunea insulelor celulare din structura tumorii. Prin combinarea acestor elemente, Jesinghaus oferă o metodă de evaluare mai precisă, standardizată, a gradului tumoral care ar putea îmbunătăți stratificarea prognostică și ghidarea strategiilor terapeutice [8].

De asemenea, în partea generală a lucrării sunt punctate aspecte referitoare la etiopatogeneza cancerului pulmonar, analizând atât rolul factorilor de mediu, cât și aspectele moleculare, această afecțiune având etiologie plurifactorială și patogeneză complexă [1].

Studii efectuate pe un grup de mineri din Europa de Est care au dezvoltat malignități pulmonare au adus în discuție expunerea la radon, care este considerată prima cauză decelată de cancer pulmonar. În prezent, fumatul este cel mai frecvent incriminat în dezvoltarea acestei patologii, 80-90% dintre cazuri fiind diagnosticate la fumători, în strânsă corelație cu numărul de țigări consumate și anii de expunere. Un rol extrem de important îl joacă inclusiv fumatul pasiv. Se cunoaște astăzi faptul că un fumător are un risc de zece ori mai ridicat de a dezvolta cancer pulmonar decât un nefumător, iar acesta poate crește chiar de 20 de ori, în cazul marilor fumătorilor (≥ 25 țigări/zi) [9-12].

Deși existența unor factori genetici asociați cu riscul de cancer pulmonar a fost studiată de multă vreme în comunitatea științifică, pentru validare a fost nevoie de un progres tehnologic considerabil, care să permită o analiză genetică amănunțită. Provocarea a fost cu atât mai mare, cu cât NSCLC sunt caracterizate de o mare diversitate genomică. Deși identificarea mutațiilor genetice asociate NSCLC reprezintă un pas important, până la

dezvoltarea unei terapii țintite este încă un drum plin de provocări. Dovadă stă faptul că progresul în tratamentul acestor cancere s-a realizat aproape exclusiv pentru neoplaziile „non-scuamoase” [10, 13].

Lucrarea de față a analizat principalele mutații genetice implicate în etiopatogeneza cancerului pulmonar: mutațiile activatoare ale receptorului factorului epidermal de creștere (EGFR), translocția kinazei limfomului anaplastic (ALK), mutațiile *Kirsten Rat Sarcoma* (KRAS), rearanjamentele genei receptorului de tirozin-kinază codificat de gena ROS1 (ROS-1), *Rearranged during Transfection* (RET) sau kinazei tirozinice a receptorului neurotrofic 1 (NTRK1), *mutații v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B -BRAF* (BRAF) și ale genei receptorului pentru factorul de creștere epidermal uman 2 (HER2), mutațiile *Mesenchymal-to-Epithelial Transition* (MET), anomaliile *Phosphatase and Tensin Homolog* (PTEN) și inhibitorului 2A al kinazei ciclîn-dependente (CDKN2A) [13-16].

În ultimele decenii, terapia cancerului pulmonar a cunoscut progrese remarcabile, în principal pe baza a două linii terapeutice majore. Prima constă în imunoterapie, care a revoluționat tratamentul NSCLC avansate prin utilizarea inhibitorilor punctelor de control imun, de exemplu, anti-*Programmed Death-1* (anti-PD-1) și anti-*Programmed Death-Ligand 1* (anti-PD-L1) pentru a stimula sistemul imunitar să recunoască și să distrugă celulele tumorale [13].

A doua linie terapeutică are la bază identificarea mutațiilor specifice tumorii, permițând astfel administrarea terapii țintite, cu scopul de a bloca căile moleculare implicate în creșterea și diseminarea tumorilor. Aici se încadrează inhibitorii de tirozinkinază, considerați în prezent standardul de îngrijire în grupuri de pacienți definite molecular [13, 17-19].

Calea *Cluster of Differentiation* (CD)39 - CD73 - adenzină reprezintă un domeniu de cercetare tot mai studiat în momentul actual, fiind considerată o potențială țintă pentru imunoterapie. Adenzintrifosfatul (ATP-ul) extracelular eliberat de celulele necrozate sau degradate reprezintă unul dintre constituenții biochimici majori ai micromediului tumoral și are efect proinflamator. Ectonucleotidazele CD39 și CD73 degradează ATP-ul extracelular până la nivel de adenzină, aceasta fiind recent recunoscută drept unul dintre cei mai potenți factori imunosupresori din micromediul tumoral. Cercetările au evidențiat faptul că CD39 are efect antiinflamator, antitrombotic și favorizează procesul de vindecare, fiind implicat în angiogeneză. Astfel, inhibitorii de CD39 ar avea un spectru vast de

potențiale efecte terapeutice: stimulează răspunsul inflamator și blochează angiogeneza, stopând astfel creșterea tumorală [20-23].

Prezenta cercetare include, de asemenea, o parte specială, în care a fost evaluată valoarea prognostică a trăsăturilor epidemiologice, morfologice, imunohistochimice și moleculare ale NSCLC.

2. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE

Studiul de față își propune să realizeze o evaluare extensivă a NSCLC, pornind de la ipoteza conform căreia în timpul pandemiei de coronavirus care provoacă sindrom respirator acut sever de tip 2 (SARS-CoV2) tumorile pulmonare au fost diagnosticate în stadii avansate și în număr redus.

De asemenea, s-a observat faptul că există aspecte microscopice atipice ale acestor tumori, prezentări care merită menționate în vederea îmbunătățirii diagnosticului, cu atât mai mult cu cât prognosticul pacienților poate fi diferit.

O altă ipoteză a studiului este aceea că există o serie de argumente microscopice, imunohistochimice sau moleculare, altele în afara celor consacrate (de exemplu, patternul micropapilar sau solid în ADK), care se corelează cu prognosticul bolii. Indicatorii morfologici sunt folosiți în prezent în gradarea SCC, fără însă să existe un model standardizat în acest sens. Majoritatea specialiștilor folosesc în practică pleomorfismul nuclear și gradul de keratinizare pentru această apreciere.

De asemenea, raportările din literatura de specialitate privind valoarea prognostică a PD-L1, EGFR și ALK sunt contradictorii și necesită studii extinse.

Obiectivele specifice ale acestui studiu sunt:

1. Evaluarea caracteristicilor epidemiologice și histopatologice ale NSCLC în contextul geografic al țării noastre și raportate la pandemia de SARS-CoV2;

2. Evaluarea valorii prognostice a anumitor trăsături morfologice ale SCC: dispoziția celulelor neoplazice, „budding”-ul tumoral, diseminarea aerogenă (STAS), indexul mitotic, desmoplazia stromală, necroza tumorală, pleomorfismul nuclear, proeminența nucleolilor, keratinizarea, gradul de diferențiere (G), stadializarea pTNM, dimensiunea tumorală;

3. Evaluarea valorii prognostice a trăsăturilor imunohistochimice sau moleculare (precum PD-L1, EGFR și ALK);

4. Evaluarea factorilor care influențează expresia PD-L1;

5. Decelarea de noi indicatori prognostici - CD39, CD73.

3. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII

Cercetarea doctorală este una retrospectivă, observațională, descriptivă și a inclus un lot de 1937 de pacienți peste 18 ani, diagnosticați cu NSCLC în Institutul de Pneumoftiziologie „Marius Nasta” (IMN) între 01 ianuarie 2015-31 decembrie 2021.

Au fost excluși din studiu subiecții care și-au retras/nu și-au exprimat în scris consimțământul informat, cei cu status mental afectat, aflați sub control judiciar, cu alte tipuri histopatologice de cancer pulmonar primitiv (carcinoide tipice/atipice, tumori non-epiteliale) sau secundar, cei cu tumori pulmonare benigne, leziuni exclusiv in situ/displazice, recidivele tumorale, cei diagnosticați exclusiv citologic, în alt interval de timp/altă instituție față de cele menționate.

Studiul s-a desfășurat conform obligațiilor ce decurg din legislația în vigoare, cu avizul Comisiei de Etică (numărul 8406/12.04.2022). Informațiile colectate (din baza de date internă, buletinele histopatologice arhivate, discuțiile cu pacienții/apartinătorii) au fost centralizate folosind Excel (versiunea 2401).

Probele tisulare au fost direcționate către Anatomie Patologică din Laboratorul de Bronhologie/Secția de Chirurgie Toracică, alături de *Fișa de însoțire a materialului biologic*. Aceasta conține informații obligatorii (date de identificare a pacientului, numărul foi de observație, diagnosticul și produsul trimis, medicul și secția trimitătoare, data intervenției medicale). După 24 de ore de fixare în formol 10%, probele au fost **examine** **macroscopic**, notându-se numărul și dimensiunea pieselor și a leziunilor, culoarea și consistența acestora din urmă, conturul circumscris sau imprecis, prezența zonelor de necroză/hemoragie, aspectul limitelor de rezecție și distanța dintre acestea și leziune. Procesarea materialului biologic s-a efectuat automat, la histoprosesor, conform tehnicilor standard. Deshidratarea s-a efectuat în soluții de etanol în concentrații crescânde (de la 70% la 100%) și clarificarea în toluen. În urma includerii în parafină au rezultat blocuri ce conțin materialul de analizat, fiecare având un număr unic de identificare. Acestea au fost secționate la microtom, rezultând secțiuni plane, transparente, de 3 microni, care au fost colorate standard - hematoxilină eozină (HE). În acest proces s-au respectat o serie de etape succesive, ce au inclus deparafinarea (benzen), hidratarea cu alcool, colorarea propriu-zisă, spălarea cu apă distilată și clarificarea (toluen). După montarea lamelor,

cazurile au fost **examine microscopic** (BX46 Olympus). Imaginile utilizate în acest studiu au fost efectuate cu ajutorul camerei digitale atașate, Olympus SC50.

4. SINTEZA CAPITOLELOR

Lucrarea de față este structurată în două părți: generală (teoretică) și specială (contribuții personale).

Partea generală aduce în prim plan stadiul actual al cunoștințelor științifice în domeniul NSCLC și cuprinde două capitole (1-2): *Situația epidemiologică și spectrul morfologic al cancerului bronhopulmonar* (capitolul 1) și *Etiopatogeneza cancerului bronhopulmonar* (capitolul 2).

Partea specială cuprinde cinci capitole (3-7): *Ipoteza de lucru și obiectivele generale* (capitolul 3), *Metodologia generală a cercetării* (capitolul 4), *Studiul epidemiologic și morfologic al carcinoamelor primitive bronhopulmonare. Aspecte privind impactul pandemiei SARS-CoV2* (capitolul 5), *Studiul imunohistochimic și molecular al carcinoamelor primitive bronhopulmonare* (capitolul 6) și *Studiul privind aspectele morfologice cu implicații prognostice în carcinoamele bronhopulmonare cu celulă scuamoasă* (capitolul 7). Fiecare dintre capitolele 5-7 reprezintă câte o direcție diferită de studiu.

Capitolul 5 este intitulat *Studiul epidemiologic și morfologic al carcinoamelor primitive bronhopulmonare. Aspecte privind impactul pandemiei SARS-CoV2*.

Cercetarea este una retrospectivă, observațională, descriptivă și a inclus 1815 pacienți diagnosticați cu NSCLC în cadrul Secției de Anatomie Patologică a IMN din București în perioada 01 ianuarie 2019 – 30 aprilie 2021.

Inițial s-a efectuat o analiză comparativă a perioadei pre- și postpandemice, evaluând întregul lot de pacienți. Ulterior, cercetarea a fost divizată în două direcții (A și B), în funcție de metoda de diagnostic, pentru a surprinde impactul neuniform al pandemiei asupra diferitelor domenii ale sectorului medical. Direcția A a studiului reprezintă o analiză a cazurilor diagnosticate chirurgical, iar direcția B a cazurilor diagnosticate biopsic.

Cele mai multe NSCLC au fost diagnosticate la bărbați (>70% din cazuri), între 60-69 de ani, tipul histopatologic dominant în întregul lot fiind reprezentat de ADK.

S-au reliefat provocări diagnostice ale acestei afecțiuni, unele extrinseci - impactul pandemiei de SARS-CoV2, iar altele intrinseci - identificarea unor aspecte morfologice

rare: carcinoame ce au contingente celulare „în inel cu pecete” sau celule clare, forme pseudoangiosarcomatoase și acantolitice sau carcinoame neuroendocrine cu celulă mare prezentând morfologie de tip carcinoid (*Fig. 1-6*).

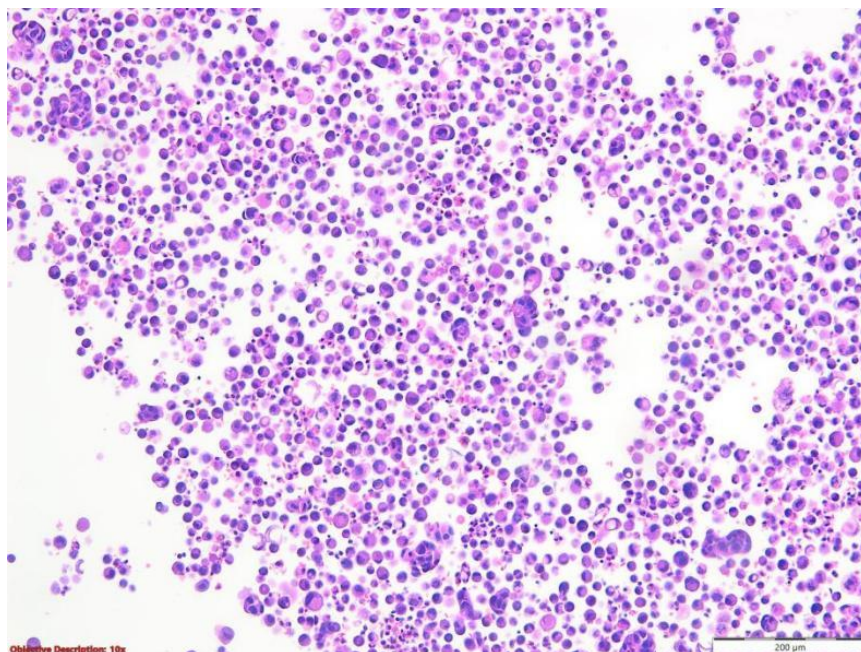


Figura 1. Citobloc din lichid pleural - celule mezoteliale, rare celule inflamatorii și elemente neoplazice cu aspect în „inel cu pecete”; HE, 100x.

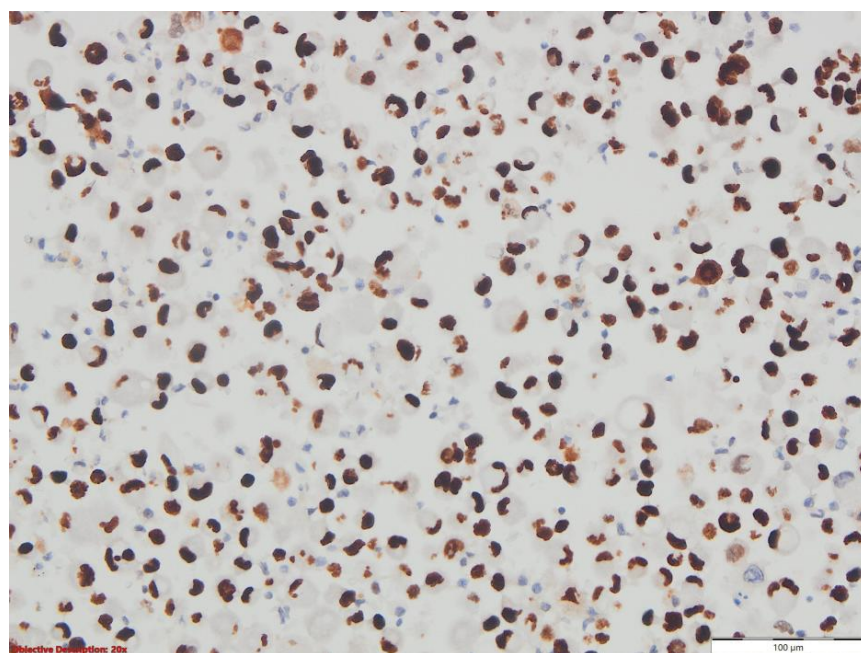


Figura 2. Citobloc din lichid pleural - celule neoplazice în „inel cu pecete” cu reacție nucleară pozitivă pentru TTF1; IHC (TTF1), 200x.

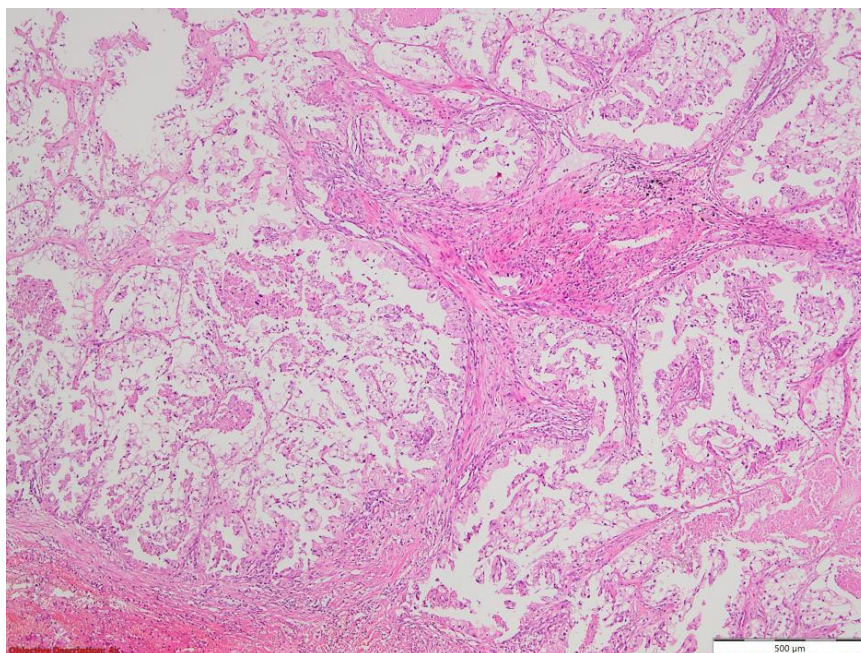


Figura 3. ADK pulmonar cu celule clare având pattern lepidic; HE, 40x.

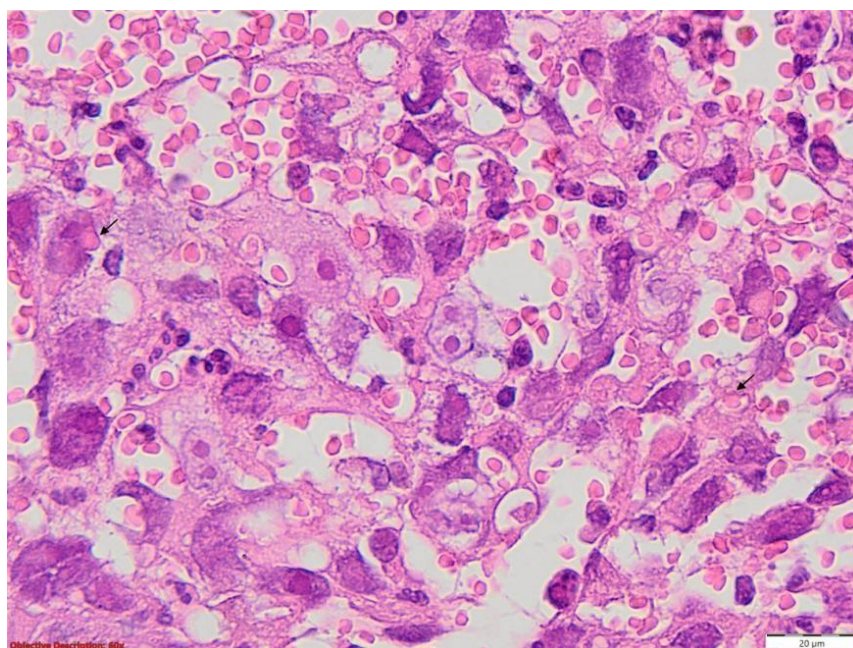


Figura 4. ADK pulmonar cu fenotip pseudoangiosarcomatos, constituit din celule neoplazice de talie mare, cu atipii nucleo-citoplasmatică moderate și decelarea intracitoplasmatică de hematii (→); HE, 6000x.

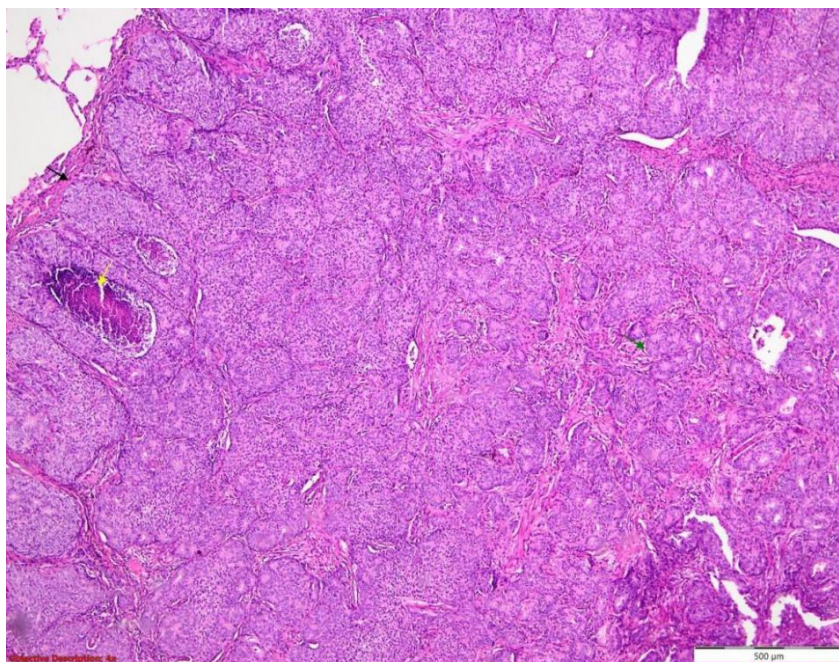


Figura 5. Plămân (stânga sus) remaniat prin proliferare tumorală (→) cu necroză focală (→), pattern organoid și formare de rozete (→); HE, 40x.

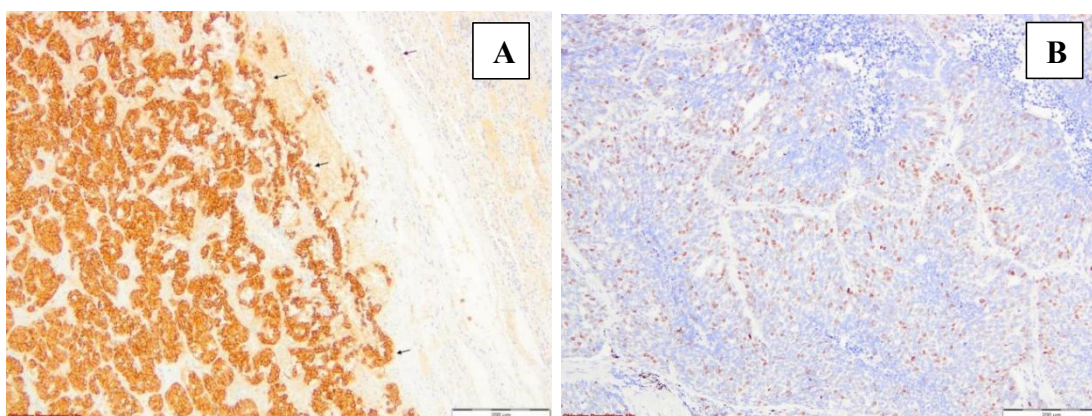


Figura 6. Plămân (→) cu leziuni de carcinom neuroendocrin cu celulă mare având morfologie de tip carcinoid (→); (A) reacție pozitivă pentru sinaptofizină și (B) Ki67 35%; IHC (A - sinaptofizină și B - Ki67), 100x.

Pandemia de SARS-CoV2 a avut un impact semnificativ asupra diagnosticării NSCLC, asociindu-se cu o reducere cu 17% a numărului total de cazuri nou diagnosticate în IMN. Cel mai mare impact a fost asupra domeniului chirurgical unde, comparativ cu intervalul pre-pandemic, cazurile s-au înjumătățit (66,9% pre-pandemic versus 33,1% pandemic) și au predominat intervențiile limitate, atipice (46,26% pre-pandemic versus 59,43% pandemic). Aceste modificări pot fi interpretate în contextul restricțiilor epidemiologice și sanitare impuse, care au determinat reducerea intervențiilor

de amploare (ca durată, complexitate, necesar de supraveghere intraspitalicească pre- și postintervențională).

Influența s-a resimțit și în ceea ce privește diagnosticul biopsic al cancerului pulmonar, reducerea (cu 17%) fiind însă mai puțin semnificativă.

Minimul de cazuri de NSCLC diagnosticate a fost atins în luna aprilie a anului 2020, la debutul pandemiei. Variația numerică a cazurilor a reflectat valurile pandemice, măsurile restrictive impuse, dar și panica generată în rândul populației de apariția unui virus cu patogeneză incomplet elucidată la acel moment.

S-a remarcat o scădere a diagnosticării cancerului pulmonar în rândul pacienților vârstnici, deși incidența maximă s-a menținut în categoria de vârstă 60-69 de ani în ambele perioade analizate, fără variații dependente de modalitatea de diagnostic sau gen.

Pandemia de SARS-CoV2 s-a asociat cu o creștere a ponderii diagnosticului la femei și indivizi expuși la fumat sau la alte noxe respiratorii. Acest aspect poate fi interpretat în contextul în care afecțiunile bronhopulmonare, frecvente la fumători (bronșită cronică ± emfizem/bronhopneumopatie cronică obstructivă, bronșiectazii etc), au determinat o adresabilitate mai crescută la medic, simptomatologia respiratorie fiind exacerbată de co-existența maladiei oncologice. De asemenea, simptomatologia NSCLC poate mima o infecție SARS-CoV2, întârziind astfel diagnosticul.

În contrast, a scăzut diagnosticarea malignităților pulmonare în rândul persoanelor din mediul rural (34,31% pre-pandemic versus 29,58% pandemic; $\chi^2=4.510$, $p=0.034$), cel mai probabil în contextul unui acces mai dificil la serviciile medicale.

În ambele perioade analizate dimensiunile tumorale fost similare din punct de vedere statistic, mai crescute la bărbați. În timpul pandemiei însă s-au prezentat mai mulți pacienți având tumori foarte voluminoase (125-150 mm), în timp ce în perioada pandemică cea mai mare tumoră a măsurat 110 mm.

În ambele perioade analizate, cele mai multe leziuni au fost diagnosticate în stadiul III (aproape jumătate din cazuri), urmate de stadiul II și mai rar de stadiul I. Deși în timpul pandemiei s-a observat o scădere ușoară a NSCLC în stadiul III și o creștere a celor în stadiu II, diferențele nu au fost semnificative statistic.

În ambele intervale analizate, ADK au predominat pe piesele chirurgicale (mare parte fiind non-mucinoase) și SCC pe piesele biopsice. Metoda de abord reflectă localizarea (periferică versus centrală) a acestor tumori, în concordanță cu publicațiile internaționale, așa cum a fost descrisă în urmă cu mult timp. Deși ponderea celor două

tipuri tumorale s-a schimbat, în prezent ADK fiind mai frecvent, localizarea acestora nu a avut de suferit.

Analizând întregul lot de studiu, s-a observat un decalaj mic între ponderea ADK (40%) și SCC (38%), explicabilă în contextul perturbărilor generate de pandemia SARS-Cov2 (diagnosticarea mai crescută a tumorilor cu localizare centrală, prin disponibilitatea mai mare a metodelor bronhoscopice).

Capitolul 6 este intitulat *Studiul imunohistochimic și molecular al carcinoamelor primitive bronhopulmonare*.

Analiza este una retrospectivă, observațională, descriptivă și a fost efectuată pe un lot de 245 de pacienți adulți, operați în IMN, în perioada 01 ianuarie 2019-31 decembrie 2021 și diagnosticați cu tipuri uzuale de NSCLC în Serviciul de Anatomie Patologică.

Testarea imunohistochimică s-a efectuat folosind PD-L1 (clona 22C3, Dako și Ventana®), ALK (clona D5F3, Roche). Analiza moleculară pentru detectarea mutațiilor EGFR a presupus extragerea ADN-ului cu ajutorul cobas® DNA Sample Preparation Kit (Roche Diagnostics). Probele au fost analizate pentru detecția mutațiilor genetice cu ajutorul cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche Diagnostics). Interpretarea rezultatelor s-a făcut utilizând cobas® 4800 software (Roche Diagnostics).

S-au testat suplimentar CD39 (clona EPR20627, Abcam) și CD73 (clona RM431, Bio SB) pe un sublot de 32 de pacienți.

Analiza imunohistochimică și moleculară a cazurilor a evidențiat un impact prognostic pozitiv al PD-L1, al mutațiilor EGFR și rearanjamentelor ALK, toate aceste variabile fiind asociate cu o supraviețuire mai ridicată (supraviețuire medie cu aproape 13 luni mai ridicată în cazurile cu PD-L1 pozitiv sau mutații EGFR și cu aproape 33 de luni mai crescută la pacienții cu rearanjamente ALK).

În lotul studiat, 38,77% dintre tumori au fost PD-L1 pozitive, acesta fiind asociat cu o scădere de peste două ori a hazardului de deces. Analizând ADK, din cele 61 de cazuri PD-L1 pozitive, cele mai multe (n=27) au avut pattern solid, urmat de micropapilar (n=17). Toate ADK lepidice au fost PD-L1 negative, iar cele papilare și acinare au fost predominant negative.

11,83% din cazuri au prezentat mutații ale genei EGFR, localizate cel mai frecvent la nivelul exonilor 19 și 20. Detecția acestor anomalii genetice a fost asociată cu o absență a expresiei PD-L1, cu excepția a cinci cazuri (toate afectate de mutații în exonul 19). Mutațiile EGFR au fost asociate cu o diminuare de 2,31 ori a hazardului de deces.

3,67 % din cazuri au avut rearanjamente ALK, asociate cu o scădere de 6,61 ori a hazardului de deces.

S-a încercat identificarea de noi indicatori prognostici, CD39 și CD73, fără însă a se evidenția o asociere semnificativă statistic între expresia imunohistochimică a acestora și supraviețuirea generală a pacienților. Totuși, trebuie să menționăm faptul că cercetarea de față are o serie de limitări, generate de buget (care nu a permis evaluarea acestor markeri pe o cohortă mai extinsă), precum și de caracterul retrospectiv și observațional al studiului.

Capitolul 7 este intitulat *Studiul privind aspectele morfologice cu implicații prognostice în carcinoamele bronhopulmonare cu celulă scuamoasă*.

Cercetarea este una retrospectivă, observațională, longitudinală cu secțiune transversală pe data de 1 iulie 2024, nerandomizată, efectuată pe o cohortă de 130 de pacienți adulți, operați pentru SCC invaziv primitiv bronhopulmonar, diagnosticați în Serviciul de Anatomie Patologică al IMN în perioada 01 ianuarie 2015-31 decembrie 2021.

Dispoziția celulelor tumorale, indexul mitotic, STAS, „budding”-ul tumoral, stadializarea (pTNM), G și dimensiunea tumorii au fost asociate cu supraviețuirea generală a pacienților diagnosticați cu această patologie.

Hazardul de deces a fost de două ori mai mare la tumorile care au prezentat STAS și cu 40% mai mare la cele cu index mitotic înalt (≥ 15 mitoze/10 HPF) sau cu „budding” tumoral.

Analizând dispoziția celulelor neoplazice atât în centru, cât și la periferia tumorii, aceasta s-a corelat semnificativ statistic cu supraviețuirea.

Identificarea în porțiunea centrală a tumorii de celule neoplazice izolate a fost asociată cu un hazard de deces de aproape 3 ori mai mare față de dispoziția în insule celulare mici (2-4 celule neoplazice) și de 6 ori mai mare față de dispoziția în insule celulare mari (≥ 5 celule neoplazice). În mod similar, analizând periferia tumorală, prezența elementelor neoplazice izolate a fost asociată cu un hazard de deces de două ori mai ridicat față de dispunerea în insule celulare mici și de aproape 3 ori mai ridicat față de dispoziția în insule mari.

O altă variabilă cu semnificație statistică a fost pTNM, tumorile în stadiul III având un hazard de deces de 3,07 ori mai crescut decât cele în stadiul I, iar cele în stadiul II de 2,04 ori mai mare. Metastazele limfoganglionare au fost asociate cu o creștere a hazardului de deces astfel: de 1,13 ori pentru tumorile pN1, de 1,56 ori pentru cele pN2, respectiv de 4,61 ori pentru cele pN3.

Față de tumorile bine diferențiate, cele moderat diferențiate au avut un hazard de deces de 1,44 ori mai mare, iar cele slab diferențiate de 2,64 ori mai ridicat.

Un factor obiectivabil macroscopic care a influențat supraviețuirea a fost dimensiunea tumorală, o creștere cu 1 cm a proliferării fiind corelată cu un hazard de deces cu 16% mai mare.

În contrast, genul și vârsta pacienților, desmoplazia stromală, keratinizarea, necroza tumorală, nucleolii proeminenți și pleomorfismul nuclear nu s-au dovedit a avea valoare prognostică în lotul studiat.

5. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

Prima direcție a studiului doctoral a fost reprezentată de analiza epidemiologică și morfologică a NSCLC, încadrându-le într-un context spațial și temporal bine definite.

Evaluarea amanunțită a malignităților pulmonare diagnosticate într-un centru de referință pentru această patologie din România a evidențiat faptul că în lotul studiat cele mai multe leziuni au fost ADK, apărute la bărbați, în categoria de vârstă 60-69 de ani, fumători. Toate caracteristicile urmărite au fost în concordanță cu raportările internaționale.

Un caracter de noutate a fost adus de integrarea acestei evaluări în contextul pandemiei de SARS-CoV2, cu atât mai mult cu cât rezultatele studiilor internaționale sunt extrem de heterogene. Pandemia s-a asociat cu o diminuare a numărului de cazuri nou diagnosticate în IMN, minimul atingându-se în luna aprilie a anului 2020, la debutul fenomenului. Sectorul chirurgical a fost cel mai puternic afectat, cazurile înjumătățindu-se și predominând intervențiile limitate, atipice.

S-a remarcat o scădere a diagnosticării cancerului pulmonar în rândul pacienților vârstnici, deși incidența maximă s-a menținut în intervalul 60-69 de ani în ambele perioade analizate. Pacienții din mediul rural au fost, de asemenea, mai puternic afectați. În schimb, a crescut ponderea diagnostică a femeilor și celor expuși la fumat/noxe respiratorii.

Contrar așteptărilor, cazurile nu au fost mai avansate la diagnostic. Pandemia a determinat o scădere ușoară a NSCLC în stadiul III și o creștere a celor în stadiu II, diferențele nu au fost însă semnificative statistic.

Analizând întregul lot, cele mai multe tumori au fost ADK, diagnosticate mai frecvent la femei, pe piesele chirurgicale; SCC au predominat la bărbați, pe biopsii (indiferent de perioadă).

Studiul a adus în atenție o serie de morfologii rare ale celor mai frecvente tipuri de NSCLC, asociate cu un grad ridicat de complexitate diagnostică: conținutul celular clar sau în „inel cu pecete”, aspectul pseudoangiosarcomatos sau acantolitic și morfologia de tip carcinoid a carcinoamelor neuroendocrine cu celulă mare. Conform cercetărilor, cazul raportat în această lucrare este primul ADK pseudoangiosarcomatos descris la nivel pulmonar.

A doua direcție a studiului doctoral a fost reprezentată de analiza imunohistochimică și moleculară a NSCLC. Cercetarea a evidențiat o asocieră între supraviețuirea pacienților și următorii factori: PD-L1 pozitiv, prezența mutațiilor EGFR și a rearanjamentelor ALK (menționate în ordine crescătoare a impactului).

PD-L1 pozitiv s-a asociat cu o scădere de peste două ori a hazardului de deces și o supraviețuire medie cu 12,81 luni mai ridicată. Un caracter de actualitate a fost corelarea patternului ADK cu expresia PD-L1, cel mai frecvent pozitivitățile regăsindu-se în fenotipurile de grad înalt (solid și micropapilar).

În cazul tumorilor cu mutații EGFR, exonii 19 și 21 au fost cel mai frecvent implicați (în concordanță cu situația descrisă la nivel internațional). Acestea au fost asociate cu o diminuare de 2,31 ori a hazardului de deces și o supraviețuire medie cu aproape 13 luni mai mare. Toate tumorile cu mutație EGFR au fost PD-L1 negative, cu excepția a cinci cazuri, toate având afectat exonul 19.

Rearanjamentele ALK au fost asociate cu o scădere de 6,61 ori a hazardului de deces și o supraviețuire medie cu aproape 33 de luni mai îndelungată.

O altă direcție de actualitate a fost încercarea de a identifica noi indicatori prognostici în NSCLC, prin analiza CD39 și CD73 la nivel tumoral. Deși au existat variații de expresie, nu s-au decelat corelații semnificative statistic cu supraviețuirea sau cu alte aspecte morfologice sau moleculare.

A treia direcție a studiului doctoral a fost reprezentată de analiza factorilor morfologici cu implicații prognostice în SCC.

Dispoziția celulelor neoplazice, indexul mitotic, STAS, „budding”-ul tumoral, pTNM, G, dimensiunea tumorală au influențat supraviețuirea generală.

Hazardul de deces a fost de două ori mai mare la tumorile cu STAS prezent și cu 40% mai mare la cele cu index mitotic înalt sau cu „budding” tumoral. Identificarea în centrul tumorii de celule neoplazice izolate a fost asociată cu un hazard de deces de aproape 3 ori mai mare față de dispoziția în insule celulare mici și de 6 ori mai mare față de dispoziția în insule celulare mari. În mod similar, analizând periferia tumorală, prezența

elementelor neoplazice izolate a fost asociată cu un hazard de deces de două ori mai ridicat față de dispunerea în insule celulare mici și de aproape 3 ori mai ridicat față de dispoziția în insule mari.

Tumorile în stadiul III au avut un hazard de deces de 2,37 ori mai crescut decât cele în stadiul I. Metastazele limfoganglionare au fost asociate cu o creștere a hazardului de deces: de 1,13 ori pentru tumorile pN1, de 1,56 ori pentru pN2 și de 4,61 ori pentru pN3.

Față de tumorile G1, cele G2 au avut un hazard de deces de 1,44 ori mai mare, iar cele G3 de 2,64 ori mai ridicat. Dimensiunea tumorală a influențat și ea supraviețuirea, o creștere cu 1 cm a proliferării fiind corelată cu un hazard de deces cu 16% mai mare.

Caracterul inovator al cercetării a constat în analiza morfologiei SCC, prin prisma implicațiilor prognostice ale acestora. În prezentul studiu, nu s-a decelat un rol prognostic al următoarelor variabile: genul, vârsta, desmoplazia stromală, keratinizarea, necroza tumorală, nucleolii proeminenți sau pleomorfismul nuclear.

Limitările acestei cercetări au fost atât de natura financiară, cât și metodologică, generate de tipul de studiu (retrospectiv, observational, descriptiv). Bugetul restrâns a limitat testarea reacției imunohistochemice a CD39 și CD73 pe un număr redus de cazuri, nepermițând astfel o evaluare extensivă, din care să poată fi extrase concluzii pertinente. Studiul a evidențiat asocieri semnificative statistic între anumiți parametri, fără însă a putea stabili relații de cauzalitate (studiu observațional). De asemenea, natura retrospectivă a cercetării a determinat limitări legate de accesibilitatea informațiilor disponibile.

O problemă rămasă nerezolvată o reprezintă evaluarea valorii prognostice a CD39 și CD73, studiul de față nedovedind o corelație între expresia imunohistochimică a acestora și supraviețuirea pacienților. Aceasta este una dintre direcțiile în care cercetarea ar putea fi continuată, prin analiza unor cohorte extinse de pacienți și, eventual prin corelarea cu alte variabile (infiltratul inflamator peri- și intratumoral, valoarea serică a proteinei C reactive).

De asemenea, decelarea altor indicatori cu valoare predictivă și prognostică ar reprezenta un pas important în managementul pacientului cu cancer pulmonar.

Alte potențiale direcții de cercetare pot fi crearea unui sistem standardizat, obiectiv, de gradare a SCC, precum și integrarea inteligenței artificiale în diagnosticul acestor malignități. De asemenea, co-infecțiile pulmonare asociate NSCLC reprezintă o latură ce necesită explorare suplimentară, putând determina fenotipuri atipice ale tumorilor și temporizarea tratamentului patologiei oncologice (exemplu: tuberculoza).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ:

[1] WHO Classification of Tumours Editorial Board; WHO Classification of Tumours. Thoracic Tumours, 5th Ed.; IACR Press: Lyon, France, 2021; p. 11–12, 20–28, 57–105

[2] Cancer (IARC), T.I.A. for R. on Global Cancer Observatory Available online: <https://gco.iarc.fr/> (accesat la data de 10.03.2025).

[3] WHO Classification of Tumours Editorial Board. Skin Tumours, 5th ed.; IARC Press: Lyon, France, 2023, p 35-47.

[4] WHO Classification of Tumours Editorial Board. Digestive system tumours, 5th ed.; IARC Press: Lyon, France, 2019, p 48-53, 205-207.

[5] WHO Classification of Tumours Editorial Board. Female Genital tumours, 5th ed.; IARC Press: Lyon, France, 2020, p 347-351, 398-401, 429-434.

[6] WHO Classification of Tumours Editorial Board. Head and neck tumours, 5th ed.; IARC Press: Lyon, France, 2023, p 14-17, 81-88, 109-111, 136-138, 263-264.

[7] WHO Classification of Tumours Editorial Board. Urinary and Male Genital tumours, 5th ed.; IARC Press: Lyon, France, 2022, p. 167-171, 227-228, 240, 356-357, 372-379.

[8] National Research Council (US) Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations. Health Risks of Radon and Other Internally Deposited Alpha-Emitters: Beir IV. Washington (DC): National Academies Press (US); 1988. PMID: 25032289.

[9] Lorenzo-González M, Torres-Durán M, Barbosa-Lorenzo R, Provencio-Pulla M, Barros-Dios JM, Ruano-Ravina A. Radon exposure: a major cause of lung cancer. *Expert Rev Respir Med.* 2019 Sep;13(9):839-850. doi: 10.1080/17476348.2019.1645599. Epub 2019 Jul 24. PMID: 31318276.

[10] Samet JM. Carcinogenesis and lung cancer: 70 years of progress and more to come. *Carcinogenesis.* 2020 Oct 15;41(10):1309-1317. doi: 10.1093/carcin/bgaa094. PMID: 32882000.

[11] Proctor, R.N. The History of the Discovery of the Cigarette-Lung Cancer Link: Evidentiary Traditions, Corporate Denial, Global Toll. *Tob Control* 2012, 21, 87–91, doi:10.1136/tobaccocontrol-2011-050338.

[12] Wilson D, Wakefield M, Owen N, Roberts L. Characteristics of heavy smokers. *Prev Med.* 1992 May;21(3):311-9. doi: 10.1016/0091-7435(92)90030-l. PMID: 1614993.

[13] Philip T. Cagle, Timothy Craig Allen, Mary Beth Beasley, Lucian R. Chirieac, Sanja Dacic, Alain C. Borczuk, Keith M. Kerr, Lynette M. Sholl, Bryce Portier, Eric H. Bernicker Precision Molecular Pathology of Lung Cancer; Second.; Springer p. 79-89, 93-103, 109-116, 119-127, 131-140, 147-155, 159-168, 173-174.

[14] Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol.* 2011 Feb;12(2):175-80. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70087-5. PMID: 21277552.

[15] Tan WL, Jain A, Takano A, Newell EW, Iyer NG, Lim WT, Tan EH, Zhai W, Hillmer AM, Tam WL, Tan DSW. Novel therapeutic targets on the horizon for lung cancer. *Lancet Oncol.* 2016 Aug;17(8):e347-e362. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30123-1. PMID: 27511159.

[16] Gendarme S, Bylicki O, Chouaid C, Guisier F. ROS-1 Fusions in Non-Small-Cell Lung Cancer: Evidence to Date. *Curr Oncol.* 2022 Jan 28;29(2):641-658. doi: 10.3390/curroncol29020057. PMID: 35200557; PMCID: PMC8870726.

[17] Zhang B, Zhang L, Yue D, Li C, Zhang H, Ye J, Gao L, Zhao X, Chen C, Huo Y, Pang C, Li Y, Chen Y, Chuai S, Zhang Z, Giaccone G, Wang C. Genomic characteristics in Chinese non-small cell lung cancer patients and its value in prediction of postoperative prognosis. *Transl Lung Cancer Res.* 2020 Aug;9(4):1187-1201. doi: 10.21037/tlcr-19-664. PMID: 32953497; PMCID: PMC7481597.

[18] Reck M, Popat S, Reinmuth N, De Ruysscher D, Kerr KM, Peters S; ESMO Guidelines Working Group. Metastatic non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014 Sep;25 Suppl 3:iii27-39. doi: 10.1093/annonc/mdu199. Epub 2014 Aug 11. PMID: 25115305.

[19] Remon J, Soria JC, Peters S; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer: an update of the ESMO Clinical Practice Guidelines focusing on diagnosis, staging, systemic and local therapy. *Ann Oncol.* 2021 Dec;32(12):1637-1642. doi: 10.1016/j.annonc.2021.08.1994. Epub 2021 Sep 1. PMID: 34481037.

[20] Mamdani H, Matosevic S, Khalid AB, Durm G, Jalal SI. Immunotherapy in Lung Cancer: Current Landscape and Future Directions. *Front Immunol.* 2022 Feb 9;13:823618. doi: 10.3389/fimmu.2022.823618. PMID: 35222404; PMCID: PMC8864096.

[21] Robson S. The therapeutic potential of CD39: interview with Dr Simon Robson by Emma Quigley. *Expert Opin Ther Targets.* 2006 Oct;10(5):649-52. doi: 10.1517/14728222.10.5.649. PMID: 16981822.

[22] Zhang B. CD73: a novel target for cancer immunotherapy. *Cancer Res.* 2010 Aug 15;70(16):6407-11. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1544. Epub 2010 Aug 3. PMID: 20682793; PMCID: PMC2922475.

[23] Shevchenko I, Mathes A, Groth C, Karakhanova S, Müller V, Utikal J, Werner J, Bazhin AV, Umansky V. Enhanced expression of CD39 and CD73 on T cells in the regulation of anti-tumor immune responses. *Oncoimmunology.* 2020 Apr 9;9(1):1744946. doi: 10.1080/2162402X.2020.1744946. PMID: 33457090; PMCID: PMC7790505.

LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

1. **Marghescu AȘ**, Leonte DG, Radu AD, Măgheran ED, Tudor AV, Teleagă C, Țigău M, Georgescu L, Costache M., „Atypical Histopathological Aspects of Common Types of Lung Cancer-Our Experience and Literature Review”. *Medicina (Kaunas).* 2024 Jan 7;60(1):112. doi: 10.3390/medicina60010112. PMID: 38256374; PMCID: PMC10818882, FI - 2,6/2024, <https://www.mdpi.com/1648-9144/60/1/112> (Capitolul 5, paginile 35-84).

2. **Marghescu AȘ**, Vlăsceanu S, Mahler B, Bădăraș IA, Țigău M, Dumitrache-Rujinski S, Leonte D, Măgheran E, Tudor A, Georgescu L, Negoescu IA, Bobocșa AC, Costache M, Savu C, „The Impact Of the SARS-COV-2 Pandemic On the Diagnosis of Lung Cancer Patients”, *Internal Medicine* vol. 21, no. 1, Sciendo, 2024, pp. 7-23, <https://doi.org/10.2478/inmed-2024-0274>, (Capitolul 5, paginile 35-84).

3. **Marghescu AȘ**, Vlăsceanu S, Preda M, Țigău M, Dumitrache-Rujinski Ș, Leonte DG, Măgheran ED, Tudor A, Bădăraș IA, Georgescu L, Costache M., „Navigating the Maze: Exploring Non-Oncological Complexities in Non-Small-Cell Lung Cancer”. *Cancers (Basel).* 2024 May 16;16(10):1903. doi: 10.3390/cancers16101903. PMID: 38791982; PMCID: PMC11120337, FI - 5,2/2024, <https://www.mdpi.com/2072-6694/16/10/1903> (Capitolul 5, paginile 35-84).

4. **Marghescu AȘ**, Vlăsceanu S, Preda M, Mahler B, Bădăraș IA, Manolescu LSC, Țigău M, Teleagă C, Toader CE, Radu AD, Stoichiță A, Costache M., „How Morphology Shapes Survival in Invasive Squamous Cell Carcinoma of the Lung”. *Diagnostics (Basel).* 2024 Oct 11;14(20):2264. doi: 10.3390/diagnostics14202264. PMID: 39451586; PMCID: PMC11505874, FI - 3/2024, <https://www.mdpi.com/2075-4418/14/20/2264> (Capitolul 7, paginile 100-128).

5. Vlăsceanu S, Mahler B, **Marghescu AȘ***, Bădărău IA, Moldovan H, Gheorghită D, Costache M, Savu C. „The Nine-Year Survival of Patients Operated for Non-Small-Cell Lung Carcinoma in a Tertiary Centre: The Impact of the Tumour Stage and Other Patient-Related Parameters”. *Medicina (Kaunas)*. 2024 Feb 28;60(3):415. doi: 10.3390/medicina60030415. PMID: 38541141; PMCID: PMC10972444, FI - 2,6/2024, <https://www.mdpi.com/1648-9144/60/3/415> (Capitolul 7, paginile 100-128).
6. Neacșu F, **Vârban (căs. Marghescu) 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. doi: 10.47162/RJME.62.3.06. PMID: 35263397; PMCID: PMC9019611, FI - 0,833/2021, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35263397/> (Capitolul 5, paginile 35-84).