

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE CRAIOVA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
ȘCOALĂ DOCTORALĂ**



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**REALITĂȚI ȘI PERSPECTIVE ÎN DIAGNOSTICUL
PRECOCE AL CANCERULUI BRONHOPULMONAR
ÎN JUDEȚUL GORJ**

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. CRISTIANA SIMIONESCU

Student-Doctorand:

VLAD ELENA

Craiova, 2014

CUPRINS

IMPORTANȚA STUDIULUI EFECTUAT	3
PARTEA GENERALĂ – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	3
PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE	6
OBIECTIVELE STUDIULUI	6
MATERIAL ȘI METODE UTILIZATE ÎN STUDIU	6
REZULTATE	7
DISCUȚII	10
CONCLUZII	16
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	17

Cuvinte cheie: carcinom bronhopulmonar, factori de risc, mortalitate, carcinogeneza, CT toracic, bronhoscopia, CBP-non-celule mici, CBP cu celule-mici, TTF1, CEA, p63, CK5/6, CK7.

IMPORTANȚA STUDIULUI EFECTUAT

Cancerul bronhopulmonar (CBP) este una dintre cele mai importante și frecvente tumori maligne, reprezentând peste 90% din tumorile pulmonare și a avut în ultimii ani cea mai exprimată tendință de creștere a incidenței dintre toate neoplaziile. Semnele clinice în această boală apar extrem de tardiv în evoluție, mai puțin de 1/3 din cazuri fiind într-o fază terapeutică utilă cu o rata de supraviețuire de 6-18 luni și numai aproximativ 20% trăiesc peste 1 an.

În prima parte a lucrării sunt trecute în revistă noțiuni despre stadiul actual al cunoașterii, cu referință asupra posibilităților de diagnostic și simptomatologiei cancerului bronhopulmonar.

A doua parte a lucrării, constituie studiul experimental, efectuat pe un număr de 780 pacienți, investigați în perioada 2005-2012. În cercetările efectuate în cadrul Tezei de Doctorat, mi-am propus să stabilesc în ce manieră factorii de risc au un impact semnificativ în patogenia CBP, să analizez aportul diferitelor metode de diagnostic și să stabilesc un grup de bolnavi cu risc crescut de CBP și modalitățile de supraveghere a acestora.

PARTEA GENERALĂ – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Cancerul bronhopulmonar cauzează anual peste 1,2 milioane de decese înregistrate la nivel global. Morbiditatea și mortalitatea prin CBP sunt crescute în majoritatea țărilor la sexul masculin cu o frecvență crescută la grupa de vârstă 65-74 ani. Deși la ora actuală localizarea bronhopulmonară rămâne mai frecventă la bărbați, rata de creștere a bolii este mult mai mare la femei, posibil datorită rolului estrogenilor în creșterea riscului la adenocarcinom bronhopulmonar [17, 32].

Majoritatea studiilor epidemiologice privind CBP sunt centrate pe rolul dovedit al tutunului în carcinogeneză. Riscul de CBP este de cel puțin 20 de ori mai mare la fumători decât la nefumători. Acest risc este demonstrat prin rata deceselor prin CBP, care este la nefumători de aproximativ 10/100 000 locuitori, dar de 140/100 000 locuitori la fumătorii de țigarete, în ansamblu și de 251/100 000 locuitori la marii fumători [4, 9]. Studiile epidemiologice au demonstrat că riscul pentru CBP este corelat cu doza cumulativă de țigarete (numărul și tipul de țigarete, număr pachete-an), cu conținutul în nicotină, cu folosirea țigaretelor cu filtru și fără filtru. Se estimează că 1 din 7 persoane care fumează peste 2 pachete țigări/zi va face CBP [48].

Mecanismul precis al carcinogenezei prin tutun este necunoscut; este posibil ca unii constituenți chimici ai tutunului să fie carcinogeni sau co-carcinogeni, împreună cu alți factori inductori. Carcinogenele din fumul de tutun sunt nu numai absorbite de epiteliul de suprafață a

căilor aeriene și alveolelor, dar sunt de asemenea metabolizate, fapt evidențiat prin prezența de mutagene în urina fumătorilor [15]. Cercetările au arătat o succesiune de modificări histologice care apar ca urmare a expunerii prelungite la fumul de tutun: inițial apare o hiperplazie a epitelului bronșic de suprafață și a celulelor bazale și ulterior o metaplazie malpighiană; în continuare apar displazii celulare (fără malignitate), posibil de evidențiat frecvent în sputa fumătorilor, cancer *in situ* și relativ tardiv, cancer adevărat (extensiv) [12].

Factorii profesionali și industriali sunt implicați în etiologia CBP, astfel expunerea prelungită la asbest, în special la muncitorii din construcții, crește semnificativ riscul de CBP, pe lângă riscul bine cunoscut pentru mezoteliomul malign pleural. Expunerea la radiații în minele de uraniu, radu crește incidența CBP de 10-30 de ori, dar și alți poluanți industriali –beriliu, cromul, nichelul, arsenicul- sunt implicați în etiologia CBP. Poluarea atmosferică din marile orașe, prin hidrocarburile aromatice rezultate din arderile incomplete ale carburanților are proprietăți carcinogene [15, 45].

Factorii de teren sunt de asemenea importanți în etiologia CBP, fără să se poată determina substratul lor, astfel carcinomul bronhopulmonar este de 2 ori mai frecvent la persoane cu bronșită cronică sau bronșectazii [39].

Patogeneza cancerului bronhopulmonar are încă multe necunoscute privind modificările moleculare și secvența lor în carcinogeneza. Celula transformată malign pierde posibilitatea de răspuns la mecanismele de control ale vieții celulare și tisulare și apare o nouă configurație antigenică celulară care dă un caracter "*non-self*" celulelor maligne declanșând reacții imune de rejecție sau de distrugere a acestora [12]. Între 2 și 10% din cazuri există o combinație de tipuri histopatologice, majoritatea carcinom epidermoid cu adenocarcinom, dar și aspectele microcelulare pot coexista cu cele non-microcelulare [13].

Datorită prognosticului, evoluției și tratamentului diferite, CBP se clasifică în două grupe majore, cu importanță clinică practică:

- ❖ *non small cell carcinoma* (NSCLC = carcinomul fără celule mici), care cuprinde carcinomul scuamos, adenocarcinomul, carcinomul cu celule mari;
- ❖ *small cell carcinoma* (SCLC = carcinomul cu celule mici).

În ultimii 20 de ani în SUA, Europa Occidentală și Japonia, cel mai frecvent tip histologic de CBP este adenocarcinomul (40%), urmat de carcinomul scuamos (25%), carcinomul cu celule mici (20%) și carcinomul cu celule mari (10-15%), celelalte tipuri reprezentând aproximativ 5% [17]. În România, pe locul întâi se situează, deocamdată, carcinomul epidermoid (45%), urmat de adenocarcinom (25%), carcinomul cu celule mari (10%) și carcinoamele cu celule mici (20%) [22, 49]. Clasificarea OMS/IASLC furnizează criterii mai precise de clasificare a displaziilor în displazii ușoare, moderate și severe. În afara categoriilor de

displazie scuamoasă și carcinom *in situ*, la grupul leziunilor preinvazive au fost adăugate încă două leziuni și anume, hiperplazia adenomatoasă atipică (AAH) și hiperplazia difuză idiopatică a celulelor neuroendocrine (DIPNECH) [13, 53].

Manifestările respiratorii ale CBP cele mai frecvente sunt: tusea, hemoptizia, wheezing-ul localizat, dispneea, durerea toracică, disfonia, astenia, inapetența și slăbirea în greutate [3]. Manifestările metastatice și paraneoplazice sunt frecvente în CBP, deoarece 60-70% din bolnavii cu CBP sunt depistați în stadii avansate de boală [15].

Examenul radiologic este metoda cea mai larg folosită pentru diagnosticul CBP, ea fiind superioară citologiei în depistarea precoce. Tomografia computerizată este extrem de folositoare în evidențierea extensiei tumorii la pleură sau la structurile mediastinale, precum în precizarea caracterelor leziunilor nodulare, unice sau multiple. Rezonanța magnetică nucleară în comparație cu CT-ul are ca avantaje lipsa iradierii și neutilizarea contrastului iodat [2, 16].

În cazul cancerului bronhopulmonar fibrobronhoscopia se folosește pentru stabilirea diagnosticului și prelevarea de fragmente bioptice, pentru stadializarea cancerului, precum și pentru realizarea unor intervenții cu caracter paleativ în cancerele depășite chirurgical, cum sunt: montarea stenturilor sau protezelor endobronșice, rezecții tumorale endobronșice, crioterapie, laserterapie sau rezecții cu electrocauterul [44]. Ecografia endoscopică este o investigație care combină ecografia și endoscopia în ideea de a obține imagini și informații anatomice, normale sau patologice, despre diferite organe [20]. Bronhoscopia cu autofluorescență este o metodă minim invazivă folosită pentru diagnosticarea cancerului bronhopulmonar în stadiul precoce. Este o procedură endoscopică ce folosește lumina albastră [25].

Examenul citologic al sputei este o metodă folositoare în diagnosticul CBP. Această metodă se bazează pe capacitatea de exfoliere celulară de la nivelul tumorii bronșice și pe identificarea celulelor maligne în spută sau lichidul de spălătură bronșică, după fixarea și colorarea preparatului. Testul este diagnostic în 70-80% din cazuri și sensibilitatea sa poate fi crescută chiar la 90%, în condiții tehnice și experiență profesională deosebite, dar la aproximativ 10% din cazuri metoda poate da rezultate fals negative [8, 14].

Stadializarea CBP se face pe baza clasificării TNM (tumoră-nodul-metastază) adoptat în 1974 de Comitetul american pentru stadializarea cancerului și revizuit ulterior. Ultima revizuire din 2012 cuprinde definirea stadiilor carcinomului bronhopulmonar, definirea stațiilor ganglionare, definirea metastazelor și stadializarea corespunzătoare [53].

PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE

OBIECTIVELE STUDIULUI

Prezenta lucrare are ca scop principal corelarea aspectelor clinice cu cele furnizate de explorările paraclinice și imagistice, în vederea elaborării unei corespondențe între prezența factorilor de risc, a scorurilor de malignitate, a rezultatelor imagistice și evaluării histopatologice în vederea elaborării unui protocol corect și complet de diagnostic.

Îndeplinirea acestor obiective se va baza pe utilizarea următoarelor metode:

- evaluarea clinică;
- evaluarea imagistică;
- evaluarea morfolologică;
- evaluarea imunohistochimică;
- analiza statistică a rezultatelor obținute.

MATERIAL ȘI METODE UTILIZATE ÎN STUDIU

Studiul nostru s-a desfășurat pe o perioadă de 8 ani, corespunzătoare intervalului 2005-2012 și a cuprins un număr de 780 pacienți cu vârste între 35 ani și 86 ani, având diagnosticul de carcinom bronhopulmonar internați în Spitalul de Pneumoftiziologie “Tudor Vladimirescu”, comuna Runcu, Județul Gorj și Spitalul Orășenesc de Urgență Tg-Cărbunești, Județul Gorj; pacienți aflați în evidența oncologică a Secției de oncologie Tg-Jiu, Județul Gorj. La acești pacienți s-a practicat aspirat bronșic, microlavaj bronșic, broșaj bronșic și biopsia bronșică, în scop diagnostic.

Ca material de studiu am utilizat **foaia de observație clinică**, din care am obținut date de interes legate de patologia studiată, și anume vârsta, profesie, domiciliu, antecedente heredo-colaterale, antecedente personale patologice, obiceiuri (fumat, mediu toxic, radiații), anamneză și examen fizic, examinări sanguine (VSH, fibrinogen, TGO, TGP, LDH), markeri tumorali (alfa 1-fetoproteina, antigen carcinoembrionar, enolaza neuron specifică, CYFRA 21-1), citologie examenului de spută, radiografie pulmonară (față și profil), fibrobronhoscopie cu prelevare de material bronșic, tomografie computerizată, ecografie abdominală, cardiacă, biopsie ganglionară; **registrele de rezultate citopatologice, anatomopatologice și imunohistochimice.**

Fragmentele tisulare obținute prin biopsie bronșică de la pacienții diagnosticați histopatologic cu carcinom bronhopulmonar, prelucrate inițial, în acest scop, prin tehnica uzuală

de includere la parafină până la stadiul de bloc de parafină în cadrul Laboratorului de Anatomie Patologică al Spitalului Orășenesc de Urgență Tg-Cărbunești, au fost ulterior comparate cu fragmentele tisulare obținute din piese de pneumectomie, intervenții desfășurate în Clinica de Chirurgie Toracică Craiova și în Secția clinică de Chirurgie Toracică a Institutului Marius Nasta București.

Din lotul studiat probele de la un număr de 62 pacienți au fost examinate imunohistochimic în cadrul Laboratorului Disciplinei de Morfopatologie al UMF Craiova.

REZULTATE

Lotul studiat a cuprins un număr de 780 pacienți urmăriți în intervalul 2005-2012, cu vârsta între 19 și 82 ani. CBP-ul a fost cel mai frecvent pentru grupa de vârstă de 60-69 ani (195 cazuri – 25,10%). Cei mai mulți pacienți au provenit din mediul urban (565 cazuri -72,43%), iar cei mai mulți au fost bărbați (624 cazuri - 80%). Comparând repartizarea pe sexe în anii de început al studiului și de sfârșit, s-a constatat modificarea proporției dintre bărbați și femei pentru anul 2005 față de anul 2012. Astfel dacă proporția bărbați/femei a fost la început studiului de 69/17, la sfârșitul studiului a fost de 67/55.

Am clasificat pacienții în funcție de stadiul bolii în momentul depistării. Astfel raportul stadii operabile/stadii inoperabile a fost de 17/69 la nivelul anului 2005, față de 42/80 la nivelul anului 2012.

Analizând rolul fumatului în etiologia CBP, am urmărit vârsta de începere a fumatului, durata fumatului, numărul și tipul de țigări fumate, modul de inhalare, existența și durata statutului de ex-fumător.

Astfel 89,90% dintre bărbații luați în studiu au fost fumători și 67,30% dintre femei. Cei mai mulți fumători au început să fumeze la vârsta cuprinsă între 10-19 ani (327 cazuri -49,09%), peste jumătate dintre ei au fumat mai mult de 40 de ani (56,60%) și cei mai mulți au fumat peste 25 țigări/zi (53,01%). Procentul celor care au fumat 40-49 pachete-ani a fost cel mai important din lotul studiat (486 cazuri -72,97%), iar în funcție de modul de inhalare cei care au inhalat profund au fost cei mai numeroși (506 cazuri -75,97%). Majoritatea au fumat țigări cu filtru (599 cazuri -89,93%), statutul de ex-fumător a fost prezent la 200 pacienți (30,03%), iar expunerea pasivă a fost semnificativă la un număr de 23 pacienți (2,94%).

Factorii profesionali au fost prezenți la un număr de 179 pacienți (22,94%), dintre aceștia 125 (69,83%) asociind expunerea la factorii profesionali cu fumatul.

Afecțiunile preexistente de tipul BPOC au fost întâlnite la 398 pacienți (51,02%), de tipul tuberculozei la 65 pacienți (8,33%), iar fibroza pulmonară de cauză netuberculoasă a fost

prezentă la 94 pacienți (12,05%). La 20 pacienți (2,56%) a fost întâlnită în anamneză o altă neoplazie primară decât cea pulmonară, iar la 203 pacienți (26,04%) nu a fost identificată în antecedentele personale patologice nici o afecțiune. Antecedentele heredo-colaterale de neoplazie indiferent de localizare au fost pozitive pentru 90 pacienți (11,53%).

Simptomul predominant al bolii a fost tusea și modificarea caracterului tusei (663 pacienți -85%), apoi hemoptizia (262 pacienți -33,59%), durerea toracică (195 pacienți – 25%) și dispneea (180 pacienți -23%).

Examinarea radiologică standard a realizat rolul de screening în depistarea CBP la 768 pacienți (98,47%), restul cazurilor fiind depistate după examinarea CT torace. Un număr semnificativ de pacienți (560 -71,79%) a prezentat neconcordanță între extensia lezională evidențiată pe radiografia standard și examinarea CT torace.

Cele mai multe modificări radiologice au fost centrale (518 – 66,42%), cele mai multe au fost modificări radiologice unice (692 -88,71%) și la fel cele mai multe au fost modificările nodulare (356 - 45,64%).

Dintre manevrele bronhoscopice practicate, aspiratul bronșic a fost pozitiv pentru 558 cazuri - 71,53%, microlavajul bronșic pentru 692 cazuri-88,71%, broșajul bronșic pentru 516 cazuri - 66,155, iar biopsia bronșică pentru 578 cazuri-74,10%. La 222 cazuri (28,46%) s-a practicat rezecție pulmonară.

Semnele directe endoscopice au fost prezente la 248 cazuri (31,79%), semnele indirecte endoscopice au fost întâlnite la 212 cazuri (27,17%), iar intricarea celor două a fost întâlnită la 320 cazuri (41,04%).

Frotiurile citologice benigne au fost în număr de 154 (19,76%), frotiurile atipice 146 (18,71%), iar frotiurile maligne au fost 480 (61,53%). Frotiurile maligne, pe baza trăsăturilor morfologice și având în vedere implicațiile terapeutice actuale au fost încadrate în următoarele categorii: carcinoame non-celule mici - sugestiv pentru carcinom scuamos (201 cazuri-25,76%),carcinoame non-celule mici - sugestiv pentru adenocarcinom (120 cazuri-15,38%),carcinoame non-celule mici - „nos” (69 cazuri -8,84%) și carcinoame cu celule mici (90 cazuri -11,59%).

Cea mai frecventă formă histopatologică a fost NSCLC cu 670 cazuri, din care 454 cazuri NSCLC-sugestiv pentru carcinom scuamos, reprezentând 58,20%, 142 cazuri au fost NSCLC-sugestiv pentru adenocarcinom, reprezentând 18,20% și 74 cazuri (9,50%) au avut ca diagnostic histopatologic NSCLC - fără alte specificații (NSCLC-„nos”- no otherwise specified). Carcinomul SCLC a fost diagnosticat ca formă histopatologică la 110 cazuri, reprezentând 14,10%.

Din cei 780 pacienți luați în studiu examenul citologic a fost pozitiv la 626 pacienți (146 frotiuri atipice și 480 frotiuri maligne) (80,25%), iar din cele 90 de exudate pleurale luate în studiu citologia a fost pozitivă la 73 exudate (81,11%).

Studiul imunohistochimic a cuprins un număr de 62 de cazuri, care au inclus atât carcinoame scuamoase cât și adenocarcinoame, ambele slab diferențiate. Toate cazurile selectate au fost investigate pentru TTF1, CEA, p63, 34βE12, CK5/6 și CK7.

Analiza imunoexpresiei TTF1 a indicat pentru adenocarcinoame pozitivitate în 95% din cazuri, în timp ce carcinoamele scuamoase au fost negative în toate cazurile investigate. Dacă pentru carcinoamele scuamoase am constatat negativitate la acest marker, adenocarcinoamele au fost în cea mai mare parte a cazurilor intens și difuz pozitive.

Analiza imunoexpresiei pentru CEA a indicat pozitivitate în ambele categorii de carcinoame, dar cu patern diferit. Pentru carcinoamele scuamoase am constatat pozitivitate în 64,2% (27 de cazuri) cu patern de colorare predominant citoplasmatic sau citoplasmatic cu intensificare periferică în timp ce adenocarcinoamele au fost pozitive în 85% din cazuri (17 cazuri) cu patern de colorare membranar.

Imunoexpresia p63 a fost pozitivă în 92,8% din carcinoamele scuamoase, în timp ce adenocarcinoamele au fost pozitive în 25% din cazuri. În 59,5% din cazuri, tumorile au pozitivitate în peste trei sferturi din celule, în 23,8% din cazuri colorarea a fost prezentă între 50-75% dintre celule și în 4 cazuri am constatat prezența marcajului în sub jumătate din celulele tumorale.

Imunoexpresia 34βE12 a indicat pozitivitate atât pentru adenocarcinoame cât și pentru carcinoamele scuamoase. În carcinoamele scuamoase markerul a fost pozitiv în 41 din 42 de tumori investigate (97.6%), dar și în 6 (30%) dintre adenocarcinoame.

Analiza expresiei CK5/6 a indicat de asemenea pozitivitate pentru ambele tipuri de carcinoame. Astfel, am constatat pozitivitate în 95,3% din cazuri pentru carcinoamele scuamoase și în 35% din cazurile de adenocarcinoame.

Analiza imunoexpresiei pentru CK7 a indicat pozitivitate în toate adenocarcinoamele (100%), dar numai în 4,7% din carcinoamele scuamoase.

Dacă analizăm tipul histologic predominant al cancerului bronhopulmonar și prezența fumăturii am observat că tipul de carcinom NSCLC-scuamos a fost cel mai frecvent întâlnit la fumătorii luați în studiu. Analiza statistică a asocierii dintre cei doi factori a arătat o valoare a lui $p < 0.01$, mult mai mică decât limita de 0.001 a lui p , indicând o diferență de distribuție înalt semnificativă din punct de vedere statistic.

Dacă luăm în considerare tipul histopatologic de carcinom NSCLC-scuamos asociat cu aspectul radiologic nodular și cel endoscopic de modificări mixte, am constatat că există o influență puternică între cei 2 factori ($p < 0.01$).

Analizându-se tipul histologic de NSCLC-adenocarcinom luându-se în considerare aspectul radiologic nodular periferic și cel endoscopic de modificări mixte, se observă că există o influență puternică între cei 2 factori ($p < 0.01$).

La tipul histologic SCLC, luându-se în considerare aspectul radiologic de modificări periferice, mixte și cel endoscopic mixte, se observă că există de asemenea o influență puternică între cei doi factori ($p < 0.01$).

Între modificările radiologice periferice mixte și cele endoscopice de compresiune extrinsecă cu tipul histologic NSCLC-„nos”, există o influență puternică, fapt evidențiat statistic de valoarea lui $p < 0.01$.

Analiza imunoexpresiei markerilor analizați pentru adenocarcinoamele și carcinoamele scuamoase slab diferențiate a indicat diferențe semnificative ale marcajelor în raport cu tipul lezional. Astfel, în cazul adenocarcinoamelor, distribuția marcajelor TTF1 pozitive a fost semnificativ superioară comparativ cu carcinoamele scuamoase analizate ($p < 0.001$, Fischer exact test), aspect constatat și în cazul marcajelor CK7 ($p < 0.001$, Fischer exact test)

În cazul CEA, deși procentul adenocarcinoamelor pozitive a fost superior carcinoamelor scuamoase, diferențele statistice au fost ne semnificative ($p > 0,05$, Fischer exact test). În ceea ce privește carcinoamele scuamoase analizate, distribuția marcajelor p63 pozitive a fost semnificativ superioară comparativ cu adenocarcinoamele analizate ($p < 0.001$, Fischer exact test), aspecte constatate și în cazul marcajelor 34βE12 și CK5/6 ($p < 0.001$, Fischer exact test).

Analiza valorilor procentuale ale marcajelor p63, 34βE12 și CK5/6 a indicat o distribuție liniară pozitivă în cazul p63/CK5/6 [$r(40) = 0.856$, $p = 0.000$], respectiv 34βE12 /CK5/6, [$r(40) = 0.304$, $p = 0.049$] și ne semnificativă în cazul p63/ 34βE12 (test Pearson).

Analiza markerilor utilizați în acest studiu indică un imunofenotip TTF1+CEA+CK7+ specific pentru adenocarcinoame și p63+, 34βE12+ și CK5/6+ specific pentru carcinoamele scuamoase pulmonare.

DISCUȚII

Urmărind distribuția pacienților în funcție de anii calendaristici, s-a observat o creștere progresivă a pacienților investigați anual, cei mai mulți pacienți fiind înregistrați în anul 2012, cu o diferență de 36 pacienți față de primul an, 2005. Acest lucru se explică atât prin creșterea frecvenței CBP-ului datorită cumulării factorilor de risc, prin creșterea adresabilității pacienților la medic, posibil și datorită campaniei anti-tabac din ultimii ani, cât și prin îmbunătățirea metodelor diagnostice.

Creșterea numărului de cazuri diagnosticate cu carcinom bronhopulmonar a fost mai pronunțată pentru grupele de vârstă mai mari de 50 ani, majoritatea studiilor epidemiologice considerând faptul că cele mai multe cazuri de cancer bronhopulmonar aparțin acestor vârste, asta datorită cumulării factorilor de risc cu evoluția îndelungată a leziunilor displazice și metaplazice precanceroase în leziuni canceroase [4, 49].

Analizându-se distribuția pacienților în funcție de mediul de proveniență, s-a observat proveniența mai mare a pacienților din mediul urban. Acest lucru se explică prin adresabilitatea crescută a persoanelor care locuiesc în mediul urban față de cel rural, atât datorită unui nivel educațional și intelectual mai mare, cât și datorită unei cunoașteri mai bune a evoluției bolii și a mijloacelor de diagnostic, de prevenție.

Pe de altă parte, numărul mai mare de pacienți din mediul urban s-ar datora accesului mai facil al populației din acest mediu la mijloacele de investigație, cât și unei expuneri mai mari la poluanții atmosferici, factorii de risc având o incidență crescută în mediul urban datorită industrializării existente aici [49].

Analizând repartitia pe sexe în ani diferiți și anume anii limită ai intervalului urmărit 2005 și 2012 am constatat modificarea raportului bărbați/femei corespunzător anului 2005, în sensul creșterii numărului de femei diagnosticate cu CBP.

Predominanța carcinomului bronhopulmonar la bărbați este explicată prin cumularea factorilor de risc pentru această boală la sexul masculin, sex supus poluanților atmosferici și industriali mai mult datorită profesiei, supus stresului mai mult datorită poziției sociale cât și obiceiului de a fuma predominant la acest sex [4]. Creșterea numărului de femei diagnosticate cu CBP în ultimii ani poate fi rezultatul numărului tot mai mare de fumătoare din rândul femeilor și creșterii rolului acesteia în viața socială, aproape identic cu cel al bărbatului [49].

Numărul mai mare de CBP la femei întâlnit în ultimii ani, s-a datorat creșterii numărului de adenocarcinoame diagnosticate la acest sex, fapt ce se atribuie rolului estrogenilor în creșterea riscului la adenocarcinomul bronhopulmonar [28].

În raport cu stadializarea la depistare a cazurilor luate în studiu, majoritatea au fost depistate tardiv, stadii de boală considerate inoperabile -IIIB și IV-, comparativ cu stadiile operabile -I,II și IIIA-. Raportul dintre cazurile inoperabile și cele operabile se modifică la nivelul anului 2012 prin creșterea numărului cazurilor operabile. Acest lucru s-ar datora îmbunătățirii mijloacelor de diagnostic datorat progresului tehnic, creșterii adresabilității, răsunetului campaniei anti-fumat din ultimii ani, cât și urmării mai atente a bolnavilor cu risc crescut pentru cancerul bronhopulmonar [6].

În raport cu distribuția pacienților în funcție de prezența fumatului activ ca factor de risc, s-a constatat că un număr mare dintre pacienții luați în studiu au fost fumători, atât femei cât și

bărbați. Toate studiile retrospective au relevat faptul că riscul de cancer bronhopulmonar este cu atât mai mare cu cât comportamentul de fumător a presupus o vârstă cât mai mică de începere a fumatului, cu cât durata fumatului a fost mai mare, cu cât numărul de țigări fumate/zi a fost mai mare, cu cât numărul pachetelor țigări-ani a fost mai mare și cu atât mai mult cu cât modul de inhalare a fost mai profund [9, 19]. Comportamentul de fumător a fost schimbat în ultima vreme, posibil ca o consecință a campaniei anti-tabac din ultimii ani, majoritatea fumătorilor folosind țigările cu filtru [47].

Deși multe studii anterioare au legat apariția cancerului bronhopulmonar de statul de ex-fumător, fiind predominant apariția acestuia în primii 5 ani de la renunțarea la țigări, încă nu este clar legat acest statut de apariția CBP [9]. Studii anterioare acreditează fumatul pasiv cu același risc față de apariția CBP ca și fumatul activ [47], dar diferența dintre numărul fumătorilor activi cu CBP și numărul fumătorilor pasivi cu CBP este semnificativă ($p < 0,05$).

A fost demonstrat faptul că expunerea concomitentă la fumat și la poluanții profesionali în special asbest, ar crește riscul de CBP de 90 de ori. Hidrocarburile aromatice rezultate din arderile incomplete (benzopirenul și dibenzantracenu) se unesc cu ADN-ul celular, inițiind carcinogeneza [15].

Studiile anterioare au relevat asocierea dintre BPOC și CBP, asta și datorită implicării fumatului în etiologia ambelor boli [3]. Cicatricile posttuberculoase, bolile pulmonare interstițiale cronice (FID, sclerodermie, poliartrită reumatoidă, sarcoidoză, pneumonia interstițială) se asociază cu CBP, în special cu NSCLC- adenocarcinoame. Termenul de „carcinom cicatricial” este utilizat pentru adenocarcinoamele care apar în asociere cu cicatricile pulmonare datorate bolilor cronice și probabil că, neoplazia se dezvoltă ca urmare a leziunilor determinate de boala de bază [6]. Tratamentele urmate de pacienții luați în studiu pentru prima neoplazie diagnosticată, în special cele de radioterapie, se pare că sunt implicate în apariția cancerului bronhopulmonar ca a doua localizare neoplazică [15].

Factorii genetici sunt de asemenea importanți în etiologia cancerului bronhopulmonar. Genele TERT și CRR 9 situate pe cea de a cincea pereche de cromozomi prelucrează telomeraza, enzimă considerată drept un factor determinant în apariția CBP. Variațiile genetice ale acestor gene cresc riscul de apariție al cancerului bronhopulmonar până la 60%, indiferent dacă persoanele sunt fumătoare sau nu [12].

Studiul nostru a arătat că simptomatologia dată de sindromul de impregnare malignă a fost predominantă, deoarece 2/3 din bolnavii cu CBP prezintă simptomatologie datorată extensiei locale intratoracice sau metastazelor extratoracice [3, 15].

Procentul mic de leziuni radiologice nedepistate prin radiologie standard, atât datorită dimensiunii leziunii (sub limita de percepție vizuală de 1,5 mm) cât și datorită poziționării

leziunii în spatele umbrei cardiace, sub cupola diafragmatică dreaptă sau leziune aparținând mediastinului, greu interpretabile pe radiografia standard, se înscrie în limitele descrise pentru această examinare de studiile anterioare [42].

Categoria leziunilor radiologice nodulare a fost cea mai importantă din punct de vedere numeric, fiind urmată de categoria leziunilor nodulare intricate cu cele interstițiale. Predominanța leziunilor intricate este dată de depistarea tardivă predominantă a cazurilor studiate, majoritatea metastazate și cu extindere locală [2].

Procentele de pozitivitate obținute de 74,10% pentru biopsia bronșică și cel mai mare de 88,71% pentru examenul citologic al microlavajului bronșic sunt comparabile cu datele din literatură [8]. Deși citologia din diferitele produse recoltate nu conferă siguranța diagnosticului histopatologic, deoarece ridică numai o suspiciune de malignitate, rămâne un examen indispensabil în cadrul managementului cancerului bronhopulmonar [14].

Semnele directe endoscopice au fost atât vegetații endoluminale, cât și stenoză endobronșică în studiul nostru, ceea ce corespunde cu datele din literatură [44]. Semnele indirecte ale neoplasmului bronhopulmonar au fost: compresiunea extrinsecă, rigiditatea bronșică și alterările de statică ale axului traheobronșic. Semnele directe și indirecte ale procesului tumoral au fost cel mai frecvent intricate.

Existența intricării semnelor directe și indirecte endoscopice este corelată cu procentul mare al cazurilor de cancer bronhopulmonar depistate în stadii tardive ale bolii, dat fiind faptul că un astfel de stadiu de boală asociază atât manifestarea endoscopică determinată de tumora în sine, cât și manifestarea endoscopică determinată de adenopatiile neoplazice și de infiltrațiile difuze de mucoasă [50].

Frecvența frotiurilor maligne de 61,53% obținută în studiul nostru la citologia efectuată din produsele biologice, se situează sub limita inferioară de pozitivitate pentru malignitate a studiilor anterioare, cuprinsă între 70-90% [14]. Dacă la această frecvență adăugăm în schimb frecvența frotiurilor atipice obținute de 18,71%, vom ajunge la o valoare de 80,24% pentru suspiciunea de malignitate dată de examenul citologic, valoare care se poziționează între valorile raportate anterior [8].

Gradul mare de citologie pozitivă a exudatelor pleurale (81,11%) se datorează faptului că în condițiile existenței unui exudat pleural, vorbim de metastazare a bolii, deci de un stadiu avansat de boală care se asociază frecvent cu citologie pozitivă [14].

Aspectele noi ale clasificării histopatologice urmărite în studiul nostru sunt cele date de posibilitățile terapeutice pe care o anumită clasă histopatologică o conferă. Astfel dincolo de clasa separare NSCLC și SCLC, datorată radio- și chimiosensibilității deosebite a SCLC, clasificarea histopatologică urmărită de noi și raportată în studiile anterioare ale Societății

Toracice Americane și ale Societății Europene Respiratorii are la bază următoarele considerente terapeutice:

1. NSCLC-adenocarcinom și NSCLC-fără specificații, trebuie testate pentru mutația EGFR, din cauză că prezența acestei mutații este predictibilă pentru răspunsul terapeutic la inhibitorii de EGFR tirozine kinase [52].
2. NSCLC-adenocarcinom este o histopatologie predictivă pentru terapia cu Pemetrexed în combinație cu Cisplatin [31].
3. NSCLC-scuamos este o histopatologie la care tratamentul cu Bevacizumab (un blocant al factorului VEGF-A, un factor de creștere vasculară care stimulează angiogeneza în cancer) s-a însoțit de frecvente hemoptizii fulminante [24].

Datele obținute în studiul nostru arată carcinomul NSCLC-scuamos este pe primul loc ca frecvență, o frecvență peste statisticile OMS și țara noastră (58,20%), NSCLC-adenocarcinomul pe locul al doilea ca frecvență, sub statisticile OMS și pentru România (18,20%). La fel frecvența carcinomului SCLC, aflat pe locul al treilea este sub statisticile OMS și România (14,10%), pe când frecvența carcinomului NSCLC-„nos” (9,50%) este comparabilă cu frecvența din România, dar mai mică decât statistica OMS.

În cele mai multe cazuri diferențierea adenocarcinomului de carcinomul scuamos pulmonar este realizată cu ușurință pe baza criteriilor morfologice standard [43], respectiv de ajutor este prezența keratinizării și a punților intercelulare ca semne distinctive ale carcinomului scuamos și arhitectura glandulară sub formă de acini, papile, micropapile sau a mucinei citoplasmatică, pentru adenocarcinom. Cu toate acestea, diferențierea poate fi dificilă în cazul tumorilor slab diferențiate, în cazul în care caracteristicile glandulare sau scuamoase sunt subtile sau prezente doar cu caracter focal. Aceste aspecte sunt amplificate pe specișenele mici biopsice, datorită celularității insuficiente, a strivirii țesuturilor prin artefacte de prelevare, sau prin dispersarea celulelor [53]. Rata de concordanță între patologi a subtipării acestor tumori pe preparatele biopsice de rutină este în jur de 81 % [43].

Imunohistochimia reprezintă un instrument auxiliar extrem de eficient în diferențierea adenocarcinomului de carcinomul scuamos. Deși algoritmul de diagnostic optim nu este încă ferm stabilit, o serie de studii recente indică faptul că imunohistochimia crește acuratețea și reproductibilitatea diagnosticului și de asemenea, minimalizează rata eșecului diagnostic pentru carcinoamele fără celule mici [52]. Panelurile de anticorpi utilizate au inclus TTF1 și CEA pentru adenocarcinoame și CK5/6 și p63 / desmoglein 3 (DG3) pentru carcinoamele scuamoase [24], sau TTF-1 și napsin A pentru adenocarcinoame și p63 alături de CK5/6 pentru carcinoamele scuamoase [31].

Utilizarea unui panel minim de anticorpi este critică pentru speci­me­nele cu celularitate redusă în care este posibilă doar efectuarea unui număr limitat de secțiuni [31]. În plus, limitările eșantionului de dimensiuni reduse este impus și de necesitatea de a conserva țesutul pentru studii moleculare suplimentare, ceea ce impune utilizarea unor paneluri de anticorpi sensibile și specifice [24].

Din analiza radiologică a formelor de cancer bronhopulmonar ce aparțin sexului feminin, observăm că spre deosebire de bărbați, femeile dezvoltă forme de cancer manifestate radiologic sub formă de modificări radiologice intricate aproape în număr egal cu bărbații, față de proporția de 1:5 între femei și bărbați în cazul manifestărilor radiologice unice. Asociat cu predominanța periferică a leziunilor radiologice la femei, putem concluziona că femeile dezvoltă forme de CBP severe, depistate într-o fază avansată, fapt datorat și posibilei componente hormonale ce stă la baza etiologiei CBP la femei [42].

Analizând rata de creștere a diferitelor forme histopatologice, cea mai mare creștere în studiul nostru a înregistrat-o NSCLC-adenocarcinomul, tendință relevată și de raportările din SUA și Japonia, care situează această formă histopatologică pe primul loc ca număr de cazuri înregistrate în ultimii 5 ani [43]. Creșterea ca număr a tuturor tipurilor histopatologice este și rezultatul creșterii capacității serviciilor medicale de a stabili diagnosticul de CBP, datorită performanțelor aparaturii medicale moderne achiziționate în ultimul timp, precum și adresabilității în creștere a populației sensibilizate deja de campania anti-tabac din ultimii ani [36, 37].

Carcinomul NSCLC-scuamos s-a asociat cel mai frecvent cu modificări radiologice nodulare centrale și modificări endoscopice mixte, iar NSCLC-adenocarcinomul s-a asociat cel mai frecvent cu modificări radiologice periferice mixte de tip intricat, nodulare și lichidiene, iar endoscopic cu modificări mixte. Tipul histologic SCLC s-a prezentat predominant sub formă de modificări radiologice centrale mixte, nodulare și mediastinale și endoscopic sub formă de semne mixte, iar tipul histologic NSCLC “nos” s-a prezentat predominant sub formă de imagine radiologică periferică mixtă și endoscopic sub formă de compresiune extrinsecă.

Dacă luăm în considerare depistarea tardivă majoritară a acestor bolnavi, cu rata mică de supraviețuire a lor la 5 ani, sub 10% conform datelor din literatură [15], ajungem la concluzia necesității unui algoritm de diagnostic, care să se poată aplica de toți medicii implicați în stabilirea acestui diagnostic (medic de familie, medic pneumolog, medic radiolog, chirurg toracic și oncolog).

CONCLUZII

1. Creșterea progresivă a numărului de cazuri cu CBP de la un an la altul, în intervalul de studiu, a concordat cu creșterea frecvenței carcinomului bronhopulmonar din ultimii ani în lume și la noi în țară, datorită cumulării factorilor de risc și incidenței crescute a obiceiului de a fuma.

2. Apariția CBP este legată predominant de vârsta peste 50 ani, de existența statutului de fumător, de mediul de proveniență urban, de existența antecedentelor heredo-colaterale de cancer, de existența afecțiunilor preexistente și de sexul masculin.

3. Majoritatea cazurilor au fost depistate în stadii inoperabile, dar în intervalul de timp studiat numărul acestor cazuri s-a redus, datorită creșterii adresabilității pacienților cât și creșterii performanțelor aparatului medical din ultima vreme, ce oferă soluții chirurgicale la tot mai multe cazuri.

4. Simptomatologia în stadiile avansate a fost dată de metastazele la distanță, pe când în stadiile incipiente simptomele principale au fost tusea, dispneea, hemoptizia și junghiul toracic.

5. Examinarea radiologică standard a îndeplinit rolul de screening, în ciuda limitelor acestei examinări, iar examinarea CT torace a permis diagnosticarea și stadializarea cu exactitate a bolii.

6. La bărbați au predominat formele radiologice de boală localizate central și unice, asta în strânsă legătură cu implicarea fumatului în etiologia CBP-ului la bărbați. La femei au predominat formele radiologice periferice și multiple, intricate (nodulare și interstițiale sau nodulare și pleurale) asta în strânsă legătură cu predominanța adenocarcinomului la acest sex.

7. Endoscopia bronșică a permis confirmarea histopatologică a cazurilor prin produsele recoltate, într-un procent cuprins între 70 și 89%, comparabil cu datele din literatură.

8. Împărțirea rezultatelor histopatologice în NSCLC și SCLC, apoi a celor NSCLC în: NSCLC-scuamos, NSCLC-adenocarcinom și NSCLC-„nos”, s-a făcut din motive terapeutice, aceste forme histopatologice beneficiind de terapii oncologice diferite. Această clasificare simplifică multitudinea formelor histopatologice ale cancerului bronhopulmonar în categorii importante din punct de vedere terapeutic.

9. Cea mai frecventă formă histopatologică a fost NSCLC-scuamos, apoi NSCLC-adenocarcinom, urmează SCLC și NSCLC-„nos”. Procentele acestor forme histopatologice obținute în studiul nostru au fost comparabile cu datele existente în literatură, forma histopatologică NSCLC-adenocarcinom înregistrând o creștere a incidenței și în studiul nostru ca și în literatură.

10. Carcinomul NSCLC-scuamos a fost întâlnit predominant la sexul masculin datorită diferențelor biologice de risc specifice sexului, cât și influenței directe a comportamentului social

al bărbatului în declanșarea bolii: fumat, risc profesional, consum de alcool, regim alimentar excitant. La femei a predominat forma histopatologică de NSCLC-adenocarcinom, fapt strâns legat de componenta estrogenică a organismului feminin și de implicarea acestor hormoni în declanșarea bolii.

11. Markerii utilizați, reprezentați de TTF-1, CEA, p63, 34βE12, CK5/6 și CK7 pot valida un algoritm de diagnostic pe fragmentele tisulare mici biopsice/brosaj, pentru carcinoamele slab diferențiate, care sunt dificil de clasificat pe preparatele uzuale.

12. Analiza markerilor utilizați în acest studiu indică un imunofenotip TTF1+CEA+CK7+ specific pentru adenocarcinoamele pulmonare, și un imunofenotip p63+, 34βE12+ și CK5/6+ specific pentru carcinoamele scuamoase pulmonare.

13. Supravegherea atentă a grupelor de risc pentru CBP din cadrul populației, cu aplicarea algoritmului propus, în special la apariția modificării caracterului tusei la un fumător cronic, ar putea duce la depistarea în stadii operabile a acestei boli și creșterea ratei de supraviețuire a acestor bolnavi. Coroborarea dintre rezultatele citologice ale produselor biologice și aspectul endoscopic bronșic poate ridica o suspiciune de malignitate, care trebuie să ducă la continuarea metodelor invazive de diagnostic pentru precizarea formei histopatologice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Alberg A, Samet J, *Epidemiology of Lung Cancer*, Chest. 2003; **123**: 21-49.
2. Barcan F, Popescu P, Voicut T, *Diagnosticul radiologic în patologia organelor toracale*, Editura Medicală București. 1980: 34-110.
3. Bogdan M, *Pneumologie*, Editura Universitară “Carol Davila”, București. 2008: 45-86.
4. Bogdan M, Didilescu C, Marica C, *Epidemiologia bolilor pulmonare cronice cu extindere în masa*, Ed. Curtea Veche. 2000: 15-56.
5. Brown AF, Sirohi D, Fukuoka J, et al. *Tissue-preserving antibody cocktails to differentiate primary squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and small cell carcinoma of lung*, Arch Pathol Lab Med. 2013; **137**: 1274-1281.
6. Ciuleanu T, *Carcinoamele bronhopulmonare: principii și practică*, Editura Medicală Universitară “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca. 2003 : 2-74.
7. Clee M, Duguid H, Sinclair D, *Accuracy of morphological diagnosis of lung cancer in a department of respiratory medicine*, Jurnal Clinical Pathology.1982. **106**:414-419.
8. De Villaine S, Mesguich P, Fabien N, *Evaluation of the role of cytology in the diagnosis of cancer of the lung. Comparison between cytology and pathological anatomy in 330 cases of proximal cancers*, Reviste Maladies Respiratoires. 1996. **76**: 295-299.

9. Didilescu C, Didilescu A, Marica C, *Fumatul sau drumul de la sănătate la boală*, Editura Dan. 2006 : 33-80.
10. Doll R, Peto R, *Mortality in relation to smoking: 20 years observations on male British doctor*, British Medical Journal. 2011; **83**: 1525-1531.
11. Fishback N, Travis W, Moran C, et al. *Pleomorphic (spindle and giant cell) carcinoma of the lung a clinicopathologic study of 78 cases*, Cancer. 1994; **73**: 2936-2945.
12. Franklin W, *Diagnosis of lung cancer. Pathology of invasive and preinvasive neoplasia*, Chest. 2000; **96**: 72-79.
13. Galbenu P, *Morfopatologia cancerului bronhopulmonar*, Editura Universul, București. 2000: 47-68;
14. Galbenu P, Ionescu J, Popescu E, *Citodiagnosticul în neoplaziile bronho-pulmonare*, Editura Universul, București. 2010:172-194.
15. Gherasim L, *Medicină Internă, volum I, ediția a II-a – Bolile aparatului respirator*, Editura Medicală, București. 2002: 433-479.
16. Grancea V, *Bazele radiologiei și imagisticii medicale*, Editura Medicală, București. 1996: 105-109.
17. Greenlee R, Murray T, Bolden S, et al. *Cancer statistics*, Jurnal Clinical. Cancer. 2010; **213**: 7-33.
18. Hammond E, *Smoking in relation to the death rates of one million men and women*, National Cancer Institute Monogram. 2005; **204**: 19-127.
19. Hecht S, *Tobacco Smoke Carcinogens and Lung Cancer*, Jurnal National. Cancer. 1999; **56**: 1194-1210.
20. Herth F, Becker H, *EBUS for early cancer detection*, Jurnal Bronchology.2003; **78**:249-253.
21. Heywang S, Lommatzch B, *Comparison of spiral and conventional CT in the detection of pulmonary nodules*, Radiology. 2009; 263-266.
22. Horvat T, Dediu A, Tarlea A, *Cancerul bronhopulmonar*, Ed.Universul.2000;31-68,191-207.
23. Jagirdar J, *Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung*, Arch pathol Lab Med. 2008; **132**: 384-396.
24. Kalhor N, Zander DS, Liu J, *TTF-1 and p63 for distinguishing pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma in previously Pap-stained cytologic material*, Mod Pathol. 2006; **19**:1117-1123.
25. Kusunoki Y, Imamura F, Uda H, *Early detection of lung cancer with laser-induced fluorescence endoscopy and spectrofluorometry*, Chest. 2000; **118**: 1776-1782.
26. Langer C, Besse B, Gualberto A, et al. *The evolving role of histology in the management of advanced non-small-cell lung cancer*, Jurnal Thoracic Oncologic. 2010; **145**: 5311-5320.

27. Lienert T, Serke M, Schonfeld N, et al. *Lung cancer in young females*, European Respiratory Journal. 2000; **16**: 986-990.
28. Lienert T, Serke M, *Lung cancer in young females*, European Respiratory Journal. 2007; **210**: 986-990;
29. Liu N, Spitz M, Kemp B, et al. *Adenocarcinoma of the lung in young patients*, Cancer. 2000; **88**: 1837-1841.
30. Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, et al. *Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens*, J Thorac Oncol. 2010; **5**: 442-447.
31. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL, *Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, Napsin A, p63 and CK 5/6*, Am J Surg Pathol. 2011; **35**: 15-25.
32. Parkin O, Pasani P, Ferlay J, *Global cancer statistics*, Jurnal Clinical Cancer. 2010; **114**: 33-64;
33. Popescu M., Stoicescu I.P., Didilescu C, *Pneumologie clinica*, Editura Universității „Lucian Blaga”, Sibiu. 1999: 170-214.
34. Rekhtman N, Brandt S, Sigel C, et al. *Suitability of cytology for new therapeutic paradigms in non-small cell lung carcinoma: high accuracy of tumor subtyping and feasibility of EGFR and KRAS molecular testing*, Jurnal Thoracic Oncologic. 2011; **98**: 451-458.
35. Riely G, Travis W, Brambilla E. Department of Pathology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, USA, *New pathologic classification of lung cancer: relevance for clinical practice and clinical trials*, Jurnal Thoracic Oncologic.SUA. 2011; **24**: 36-43.
36. Rossi G, Papotti M, Barbareschi M, et al. *Morphology and a limited number of immunohistochemical markers may efficiently subtype non-small-cell lung cancer*, J Clin Oncol. 2009; **27**:141-142.
37. Sackett M, Melanie K, Diva R, et al. *Diagnostic concordance of histologic lung cancer type between bronchial biopsy and cytology specimens taken during the same bronchoscopic procedure*, Archives of Pathology and Laboratory Medicine. vol. 134. 2010; **159**: 1504-1512.
38. Savci-Heijink CD, Kosari F, Aubry MC, et al. *The role of desmoglein-3 in the diagnosis of squamous cell carcinoma of the lung*, Am J Pathol. 2009; **174**: 1629-1637.
39. Schottenfeld O, *Etiology and epidemiology of lung cancer*, Principles and practice, 2nd edition, Philadelphia. 2010; **56**: 367-388.
40. Scott W, Howington J, Feigenberg S, et al. *Treatment of non-small- cell lung cancer stage I and stage II; ACCP evidence-based clinical practice guidelines*, Chest. 2007; **132**: 2345-2425.
41. Socinski M, Crowell R, Hensing T, et al. *Treatment of non-small cell lung cancer, stage IV*, Chest. 2007; **132**: 2775-2895.

42. Sperber M, *Radiologic Diagnosis of Chest Disease*, Ed. Springer-Verlag. 1990; **56**: 422-439.
43. Stang A, Pohlabein H, Muller KM, et al. *Diagnostic agreement in the histopathological evaluation of lung cancer tissue in a population-based case-control study*, Lung Cancer. 2006; **52**: 29-36.
44. Stradling P, *Diagnostic bronchoscopy, sixth edition*, Ed. Churchill Livingstone. 1991; **73**: 114-142.
45. Tirmarche M, Raphalen A, Allin F, *Mortality of a cohort of French uranium miners exposed to relatively low radon concentrations*, British Medical Journal. 2011; **106** : 1090 – 1097.
46. Travis WD, Brambilla E, Harris CC, *Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*, Pathology & Genetics. IARC Press. Lyon. 2004; **54**: 213-231.
47. Trofor A., Mihăescu T., Frăţilă I, *Tutunul – factor de risc în cancerul bronhopulmonar: stadiul actual al cunoştinţelor*, Volume rezumate ale conferinţei INSPIR, Iasi. 2003.
48. Tweedie R, Mengersen K, *Lung cancer and passive smoking*, Jurnal Clinical Cancer. 2002; **154**: 700-705.
49. Țârlea A, Dediu M, *Epidemiologia și factorii de risc în cancerul bronhopulmonar*, Editura Universul. București. 2010: 15-22.
50. Ulmeanu R, Mihălțan FD, Cordoș I, et al. *Endoscopia toracică diagnostic și terapeutică*, Ed. Universitară “Carol Davila” . București. 2009: 50-100, 391-405.
51. Ulmeanu R, Teză de doctorat: “*Aportul bronhoscopiei și al tomografiei computerizate în diagnosticul cancerului pulmonar*”, Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova. 2006; 100-179.
52. Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda T, et al. *evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63 and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of lung*, Arch Pathol Lab Med. 2012; **136**: 155-162.
53. World Health Organisation, *Histological typing of lung tumors and pleural tumors*, 3Rd.ed. Geneva. 2012.
54. Zakowski M, Ladanyi M, Rekhtman N. et al, *Reflex testing of lung adenocarcinomas for EGFR and KRAS mutations: The memorial Sloan-Kettering experience*, Jurnal Thoracic Oncologic. SUA. 2008; **83**: 220-231.