

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA**  
**ȘCOALA DOCTORALĂ**

# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**Rolul factorilor de creștere în progresia  
carcinoamelor bazocelulare**

**REZUMAT**

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:  
PROF.UNIV. DR. SIMIONESCU CRISTIANA**

**STUDENT-DOCTORAND:  
FLORESCU DIANA-ELENA**

**CRAIOVA  
2018**

# **CUPRINS**

## **INTRODUCERE**

### **STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII**

CAPITOLUL I. Date epidemiologice și factori de risc în carcinoamele bazocelulare

CAPITOLUL II. Patogenia carcinoamelor bazocelulare

CAPITOLUL III. Factori prognostici în carcinoamele bazocelulare

CAPITOLUL IV. Forme clinice, diagnosticul și tratamentul carcinoamelor bazocelulare

### **CONTRIBUȚII PROPRII**

#### **MOTIVAȚIA ȘI SCOPUL STUDIULUI**

### **CAPITOLUL V. MATERIAL ȘI METODE**

### **CAPITOLUL VI. REZULTATE**

VI.A. Studiul datelor epidemiologice ale carcinoamelor bazocelulare

VI.B. Studiul histopatologic al carcinoamelor bazocelulare

VI.C. Studiul imunohistochimic al carcinoamelor bazocelulare

### **CAPITOLUL VII. DISCUȚII**

VII.A. Discuții asupra studiului datelor epidemiologice ale carcinoamelor bazocelulare

VII.B. Discuții asupra studiului histopatologic al carcinoamelor bazocelulare

VII.C. Discuții asupra studiului imunohistochimic al carcinoamelor bazocelulare

### **CAPITOLUL VIII. CONCLUZII**

### **BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ**

## INTRODUCERE

Carcinomul bazocelular constituie una dintre cele mai frecvente neoplazii umane maligne, reprezentând 70-80% dintre tumorile maligne cutanate, cu rată înaltă de vindecare și un prognostic excelent când este diagnosticat în stadii precoce [53].

Cu toate acestea, agresivitatea carcinoamelor bazocelulare este variabilă și este dependentă de unii parametrii histopatologici reprezentați de subtipul, dimensiunea și stadiul tumoral [7]. În același timp, deși rata de metastazare a carcinoamelor bazocelulare este scăzută, leziunile prezintă capacitatea de invazie locală specifică leziunilor maligne.

Datele epidemiologice, frecvența leziunilor și factorii de risc asociați, desemnează carcinoamele bazocelulare ca fiind o importantă problemă de sănătate în întreaga lume.

Comportamentul biologic particular al carcinoamelor bazocelulare în comparație cu alte tumori maligne și absența unor leziuni precursoare, a susținut cercetarea mecanismelor biomoleculare care stau la baza inițierii și progresiei tumorale, precum și a rolului prognostic al diferențierilor histologice în vederea unei terapii eficiente [86,124].

În acest context, identificarea unor biomarkeri asociați criteriilor epidemiologice și histopatologice de agresivitate a carcinoamelor bazocelulare constituie o țintă de interes, în vederea stabilirii mecanismelor implicate în carcinoogeneza cutanată și poate reprezenta model de investigație a leziunilor din punct de vedere al managementului terapeutic.

Studiul realizat propune investigarea complexă integrată epidemiologică, histopatologică și imunohistochimică a carcinoamelor bazocelulare, în vederea stabilirii de relații statistice, care să susțină promovarea unor parametrii histologici și moleculari ca și criterii de stratificare a pacienților pentru terapie.

**Cuvinte cheie:** carcinom bazocelular, tip histopatologic, receptori EGF, index de proliferare KI67, tandem TGFβ3/ TGFβRIII

### **CAPITOLUL I. Date epidemiologie și factori de risc în carcinoamelor bazocelulare**

În această secțiune au fost descrise cele mai recente date din literatură referitoare la distribuția geografică a leziunilor, rapartiția în funcție de grupele de vârstă, sex, precum și în

raport cu localizarea carcinoamelor bazocelulare. De asemenea au fost descriși factorii de risc clasici și recent identificați asociați carcinoamelor bazocelulare.

## **CAPITOLUL II. Patogenia carcinoamelor bazocelulare**

În acest capitol au fost descrise mecanismele biomoleculare implicate în apariția carcinoamelor bazocelulare, precum și genele și proteinele incriminate.

## **CAPITOLUL III. Factori prognostici în carcinoamele bazocelulare**

Secțiunea a inclus factorii histologici și moleculari care pot influența prognosticul carcinoamelor bazocelulare.

## **CAPITOLUL IV. Forme clinice, diagnosticul și tratamentul carcinoamelor bazocelulare**

Capitolul a inclus cele mai recente date referitoare la aspectele clinice ale leziunilor, diagnosticul pozitiv și diferențial, precum și la potențialul diferitelor modalități de tratament al carcinoamelor bazocelulare, prin raportare permanentă la aspecte histopatologice ale leziunilor.

## **CONTRIBUȚII PROPRII**

### **MOTIVAȚIA ȘI SCOPUL STUDIULUI**

În acest studiu este propusă investigarea completă și amănunțită a imunoexpresiei receptorilor factorului de creștere epidermal EGFR, HER2 și HER3, a factorului  $\beta 3$  de transformare și creștere (TGF $\beta 3$ ), a unuia dintre receptorii acestuia (TGF $\beta$ RIII) și a indexului de proliferare Ki67 în carcinoamele bazocelulare, în raport cu principalii parametri epidemiologici și histopatologici ai leziunilor.

Caracterizarea imunohistochimică a markerilor selecționați în raport cu criteriile de agresivitate adoptate pentru carcinoamele bazocelulare poate clarifica aspectele legate de comportamentul biologic al leziunilor, precum și legate de inițierea și progresia locală sau la distanță tumorală.

## **CAPITOLUL V. MATERIAL ȘI METODE**

Studiul realizat a inclus un număr de 778 de carcinoame bazocelulare diagnosticate în perioada 2013-2017.

Acest studiu este unul prospectiv cu componentă retrospectivă, metodele utilizate constând în analiza epidemiologică, histopatologică, imunohistochimică și statistică a rezultatelor obținute.

Pentru analiza imunohistochimică au fost selectate 53 de cazuri, pentru cuantificare utilizându-se indexul de proliferare pentru Ki67 și scoruri compuse care au ținut cont de numărul de celule marcate și intensitatea reacțiilor pentru EGFR, HER2, HER3, TGFβ3 și TGFβRIII. Toate datele obținute au fost înregistrate într-o bază electronică de date, care a fost utilizată pentru stabilirea de grupuri de comparație și pentru analiza comparativă a rezultatelor obținute.

## **CAPITOLUL VI. REZULTATE**

În cadrul *analizei datelor epidemiologice* am constatat o creștere a incidenței carcinoamelor bazocelulare cu 10.3% pe perioada studiului. Majoritatea pacienților au aparținut decadei a -7a de viață (47.5%) și sexului masculin (54.2%), au provenit din mediul rural (63.6%), au prezentat leziuni predominant la nivelul capului și gâtului (84.6%) și au avut dimensiuni sub 2cm (87%).

Pentru 55.2% din cazuri au fost identificați factori de risc asociați, cel mai frecvent reprezentați de expunerea la radiații (65.7%). Cele mai puține cazuri au aparținut vârstelor tinere, sub 50 de ani, pentru care am observat doar 11 cazuri, reprezentând 1.5%. Am identificat un singur caz de carcinom bazocelular sub 40 de ani. Cel mai tânăr pacient a avut 37 de ani, iar cel mai în vârstă 88 de ani, cu o medie de diagnostic a carcinoamelor bazocelulare de 65.4 ani.

*Analiza histopatologică* a inclus analiza tipului și subtipului histologic, cel mai frecvent fiind carcinoamele nodulare (71.7%), micronodulare (12.2%), morfeiform (8.4%), superficial (4.2%) și metatipic (3.5%). În ceea ce privește subtipul histopatologic, carcinomul bazocelular convențional a avut o incidență cu 18.2% mai mare comparativ cu incidența tuturor celorlalte subtipuri de carcinom nodular.

Analiza stadializării pTNM a indicat faptul că cele mai multe carcinoame bazocelulare au fost diagnosticate în stadiul I de boală, respectiv în 87% din cazuri, urmate de stadiul II în 12.3% cazuri și stadiile III/IV în 0.7% cazuri. Printre factorii de risc înalt pentru carcinoamele bazocelulare, care au fost identificați în vederea stadializării s-au numărat profunzimea invaziei peste 2mm, stadiul Clark level  $\geq$ IV, invazia perineurală (12 cazuri, 1.5%).

Analiza stadializării Clark a indicat predominanța leziunilor aflate în stadiul IV, pentru care au fost diagnosticate 54% din cazuri, urmate de stadiul V cu 20.7%, stadiul III cu 20.3% și stadiul II cu 5% din cazuri.

În cazul carcinoamelor cu invazie cel puțin la nivelul țesutului subcutanat (Clark 5), au fost observate aspecte particulare, în care insulele tumorale au distorsionat arhitectura țesutului adipos sau al fasciculelor de fibre musculare striate. În acest studiu, invazia profundă (Clark 5) a fost observată pentru toate subtipurile de carcinom bazocelular cu excepția celui superficial, la frontul de invazie tumoral fiind de obicei prezente modificări stromale și un răspuns inflamator sau desmoplazic.

Modificările asociate ale stromei tumorale au fost reprezentate de transformarea mixoidă și răspunsul inflamator, aspectele fiind uneori asociate.

Statusul marginilor de rezecție chirurgicală a indicat faptul că în majoritatea carcinoamelor bazocelulare analizate acestea au fost indemne, respectiv în 738 de cazuri (94.8%). În 40 de cazuri (5.2%) am constatat fie invazia unei margini de rezecție laterale (20 cazuri), fie a ambelor margini de rezecție laterală (5 cazuri), fie a marginii de rezecție profundă (15 cazuri).

*Analiza imunohistochimică* a carcinoamelor bazocelulare a indicat faptul că imunoexpresia EGFR, HER2 și HER3 a fost identificată în 90.5%, 86.7% și respectiv 81.1% din carcinoamele analizate, marcasele fiind prezente la nivelul membranei celulelor tumorale. De asemenea, am constatat diferențe semnificative ale expresiei EGFR, HER2 și HER3 în raport cu tipurile histologice de carcinoame bazocelulare analizate.

Cu toate că valorile marcajelor receptorilor EGF au fost superioare în carcinoamele bazocelulare aflate în stadii avansate, aspectul a fost nesemnificativ statistic. În acest studiu am constatat corelații liniare pozitive semnificative ale expresiei EGFR, HER2 și HER3.

Imunoreacțiile Ki67 au fost prezente pentru toate cazurile analizate, cu localizare la nivelul nucleului celulelor tumorale. Indexul de proliferare (IP) Ki67 a indicat diferențe semnificative în raport cu tipul histologic și stadiul tumoral al carcinoamelor bazocelulare, cele mai mari valori fiind identificate în carcinoamele bazocelulare adenoide și morfeiforme, aflate în stadii avansate.

Imunoexpresia TGFβ3 și TGFβRIII a fost identificată în 88.7% și 84.9% din cazuri la nivelul citoplasmei celulelor tumorale. În acest studiu am constatat diferențe semnificative ale imunoexpresiei TGFβ3 și TGFβRIII în raport cu tipul carcinoamelor bazocelulare, iar în cazul

TGFβ3 și în raport cu stadiul tumoral. Valorile înalte ale expresiei TGFβ3 și TGFβRIII au fost frecvent asociate carcinoamelor adenoide și morfeiforme aflate în stadii avansate.

## **CAPITOLUL VII. DISCUȚII**

Carcinomul bazocelular constituie una dintre cele mai frecvente tumori maligne, reprezentând aproximativ 70-80% dintre cancerurile cutanate [83]. Cu o rată anuală de creștere a incidenței cuprinsă între 3-7%, leziunea prezintă variații geografice semnificative legate de incidență, cele mai mari valori fiind înregistrate în Australia, iar cele mai mici în Africa, aspectul fiind legat atât de gradul de pigmentare al tegumentului locuitorilor, cât și de expunerea solară [29]. Expunerea la radiațiile ultraviolete, factorii chimici și genetici, infecțiile virale și imunosupresia sunt cel mai frecvent incriminați în apariția carcinoamelor bazocelulare [7,83].

Datele din literatura indică pentru carcinoamele bazocelulare o incidență maximă după 50 de ani cu un raport între sexe de M/F de 1.5-2:1 [185]. Este indicată predominanța carcinoamelor bazocelulare la nivelul regiunilor capului și gâtului în 70-80% din cazuri. [7].

La ora actuală, există trei tipuri majore histopatologice ale carcinoamelor bazocelulare, cu corespondență clinică, reprezentate de tipurile nodular, superficial și infiltrativ, fiind descrise și paternuri de creștere cu prognostic variabil de agresivitate și recurență, așa cum sunt tipurile micronodular, adenoid, morfeiform, pigmentat, fibroepitelial, cu diferențieri anexiale sau scuamoase [83].

Welsch și colab. au subliniat corelația diferitelor subtipuri histopatologice cu profunzimea invaziei într-un studiu ce a inclus un număr de 100 de piese de biopsie de carcinom bazocelular și au constatat că tumorile micronodulare au cea mai mare invazie medie, urmate de subtipurile infiltrative, nodulare și superficiale [284]. Datele din literatură indică faptul că o distanță de 5mm a marginii de rezecție tumorale ar trebui să fie suficientă pentru evitarea apariției recidivelor tumorale [83].

Există dovezi ale implicării EGF și receptorilor în dezvoltarea și agresivitatea carcinoamelor bazocelulare, mai ales prin prisma cooperării cu alte mecanisme. Studiile realizate asupra receptorilor EGF indică expresia acestora în cazul tegumentului normal, precum și expresia variabilă în cazul carcinoamelor bazocelulare [223].

În ceea ce privește imunoexpresia Ki67 în carcinoamele bazocelulare, datele obținute până în prezent sunt controversate, de la rezultate care indică intervale largi de variație ale expresiei

markerului, la absența corelării cu parametrii histopatologici, la asocieri cu parametrii de prognostic ai leziunilor și recurența carcinoamelor bazocelulare [140].

În cazul țesuturilor normale și carcinoamelor aflate în stadii inițiale, TGFβ are un efect supresor, cu efecte de inhibare ale proceselor implicate în dezvoltarea tumorală locală, așa cum sunt inhibarea proliferării celulare, inducerea apoptozei, inhibarea imortalizării celulare. În cazul leziunilor agresive și invazive, prin activarea unor mecanisme biomoleculare complexe, precum tranziția epitelio-mezenchimală și angiogeneza, sunt activate migrarea, invazia și metastazarea celulelor canceroase [152].

De asemenea, rezultatele publicate sugerează un rol dual al TGFβRIII în sensul stimulării pe de o parte a expresiei bazale a TGFβ și implicit promovarea progresiei și metastazării și pe de altă parte implicare în diminuarea semnalizării ligand dependente prin prevenirea blocării ligandului în cadrul complexului TGFβRII - TGFβRI [171].

## **CAPITOLUL VIII. CONCLUZII**

Studiul *datelor epidemiologice* a indicat:

- vârsta medie de diagnostic a carcinoamelor bazocelulare a fost de 65.4 ani, 98.6% dintre leziuni fiind identificate după 50 de ani;
- leziunile au predominat la sexul masculin (54.2%), cu un raport între sexe de 1.18, și în mediul rural (63.6%) cu raport între cele două medii de 1.74;
- pentru 55.2% din cazuri au fost identificați factori de risc asociați, mai frecvent reprezentăți de expunerea la radiații (65.7%), sau asocierea cu istoricul familial și imunosupresia (23.9%);
- localizarea de elecție a leziunilor a fost la nivelul capului și gâtului (84.6%), urmate de torace (13.1%) și membre (2.3%);
- au predominat leziunile cu dimensiune mai mică sau egală cu 2cm (87%), comparativ cu cele de peste 2cm (13%).

*Analiza histopatologică* a carcinoamelor bazocelulare a indicat:

- carcinomul bazocelular nodular a fost cel mai frecvent tip histologic (71.7%) și urmat de tipurile micronodular (12.2%), morfeiform (8.4%), superficial (4.2%) și metatipic (3.5%);
- carcinomul bazocelular convențional a fost cel mai frecvent subtip de carcinom nodular (42.4%), urmat de forma adenoidă (13.1%), chistică (9.4%), pigmentată (4.9%) și keratotică (1.9%);



- stadializarea pTNM a indicat faptul că cele mai multe carcinoame bazocelulare au fost diagnosticate în stadiul I de boală (87%), în timp ce pentru stadializarea Clark au predominat leziunile aflate în stadiul IV (54%);
- invazia perineurală a fost prezentă în 1.5% din cazurile investigate și pentru 5.2% din cazuri am constatat invazia cel puțin a unei margini de rezecție.

*Analiza imunohistochimică* a carcinoamelor bazocelulare a permis următoarele observații:

- am constatat diferențe semnificative ale expresiei EGFR, HER2 și HER3 în raport cu tipurile histologice de carcinoame bazocelulare analizate; tipul morfeiform s-a caracterizat prin scoruri înalte ale receptorilor EGF, tipul adenoid prin valori înalte ale EGFR și HER2, iar tipul nodular a prezentat cele mai mici valori, ceea ce desemnează receptorii EGF ca proteine implicate în agresivitatea și diferențierea histologică a carcinoamelor bazocelulare;
- IP Ki67 a indicat diferențe semnificative în raport cu tipul histologic și stadiul tumoral al carcinoamelor bazocelulare, cele mai mari valori ale IP Ki67 fiind identificate în carcinoamele bazocelulare adenoide și morfeiforme, aflate în stadii avansate; au existat corelații liniare pozitive semnificative ale IP Ki67 cu receptorii EGF, precum și cu TGFβ3 și TGFβRIII;
- am constatat diferențe semnificative ale imunoexpresiei TGFβ3 și TGFβRIII în raport cu tipul carcinoamelor bazocelulare, iar în cazul TGFβ3 și în raport cu stadiul tumoral;
- valorile înalte ale expresiei TGFβ3 și TGFβRIII au fost frecvent asociate carcinoamelor adenoide și morfeiforme aflate în stadii avansate;
- am observat corelații liniare pozitive semnificative ale TGFβ3 și TGFβRIII, precum și ale TGFβ3 în raport cu EGFR și HER2;
- rezultatele obținute în acest studiu indică implicarea markerilor analizați în agresivitatea carcinoamelor bazocelulare, ceea ce susține includerea în grupul de ținte cu potențial terapeutic pentru aceste leziuni.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- 7.American Joint Committee on Cancer. Cutaneous squamous cell carcinoma and other cutaneous carcinomas, In: American Joint Committee on Cancer; American Cancer Society; American College of Surgeons. AJCC cancer staging manual. New York Springer. 2010; 301-14.
- 29.Birch-Johansen F, Jensen A, Mortensen L, Olesen AB, Kaer SK. Trends in the incidence of nonmelanoma skin cancer in Denmark 1978-2007: Rapid incidence increase among young Danish women. *Int J Cancer*. 2010; 127(9):2190-8.
- 53.Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol*. 2006; 19(Suppl 2):S127-47.
- 83.Goldenberg G, Golitz LE, Fitzpatrick J. Histopathology of Skin Cancer, In: Stockfleth E, Rosen T, Schumaak S, Managing Skin Cancer, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag,2010, 17-35.
- 86.Göppner D, Leverkus M. Basal cell carcinoma: from the molecular understanding of the pathogenesis to targeted therapy of progressive disease. *J Skin Cancer*. 2011; 2011:650258.
- 124.Kasper M, Jaks V, Hohl D, Toftgård R. Basal cell carcinoma - molecular biology and potential new therapies. *J Clin Invest*. 2012; 122(2):455-63.
- 140.Kramer E, Herman O, Frand J, Leibou L, Schreiber L, Vaknine H. Ki67 as a biologic marker of basal cell carcinoma: a retrospective study. *Isr Med Assoc J*. 2014; 16(4):229-32.
- 152.Lebrun JJ. The Dual Role of TGF $\beta$  in Human Cancer: From Tumor Suppression to Cancer Metastasis. *ISRN Mol Biol*. 2012; 2012:381428.
- 171.McLean S, Di Guglielmo GM. TGF beta (transforming growth factor beta) receptor type III directs clathrin-mediated endocytosis of TGF beta receptor types I and II. *Biochem J*. 2010; 429(1):137-45.
- 185.Nedved D, Tonkovic-Capin V, Hunt E, Zaidi N, Jucenic MJ, Graves JJ, Fraga GR. Diagnostic concordance rates in the subtyping of basal cell carcinoma by different dermatopathologists. *J Cutan Pathol*. 2014;41(1):9-13.
- 223.Ruiz Salas V, Alegre M, Garcés JR, Puig L. Locally advanced and metastatic basal cell carcinoma: molecular pathways, treatment options and new targeted therapies. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2014; 14(6):741-9.
- 284.Welsch MJ, Troiani BM, Hale L, DelTondo J, Helm KF, Clarke L. Basal cell carcinoma characteristics as predictors of depth of invasion. *J Am Acad Dermatol*. 2012; 67(1):47-53.