

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
FACULTATEA DE MEDICINĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

STUDIU CLINIC, HISTOPATOLOGIC ȘI
IMUNOHISTOCHIMIC
ÎN LEZIUNILE PRECANCEROASE EPITELIALE
PRECURSOARE CARCINOMULUI SPINOCELULAR
PE TEGUMENTELE FOTOEXPUSE

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:
PROF. UNIV. DR. MOGOANTĂ LAURENȚIU

STUDENT DOCTORAND:
VÎLCEA ALINA MARIA

CRAIOVA

-2013-

CUPRINS

| | |
|--|-----|
| Cuprins..... | 2 |
| Introducere..... | 3 |
| Stadiul cunoașterii | |
| Capitolul 1. Histogeneza și structura organului cutanat..... | 6 |
| Embriologia pielii..... | 6 |
| Structura histologică a pielii..... | 8 |
| Capitolul 2. Carcinogeneza cutanată..... | 18 |
| Teoriile carcinogenezei..... | 18 |
| Factorii intrinseci ai carcinogenezei..... | 20 |
| Factorii extrinseci ai carcinogenezei..... | 26 |
| Răspunsul imun în cancer..... | 31 |
| Capitolul 3. Precancererele cutanate epiteliale..... | 32 |
| Keratozele actinice..... | 32 |
| Cheilita actinică..... | 43 |
| Cornul cutanat..... | 47 |
| Boala Bowen..... | 49 |
| Keratoacantomul..... | 53 |
| Contribuții proprii..... | 60 |
| Capitolul 4. Studiul clinic al precancerelor epiteliale..... | 61 |
| Importanța studiului clinic..... | 61 |
| Material și metodă..... | 61 |
| Rezultate..... | 63 |
| Discuții..... | 94 |
| Capitolul 5. Studiul histologic al precancerelor epiteliale..... | 117 |
| Importanța studiului histologic..... | 117 |
| Material și metodă..... | 117 |
| Rezultate..... | 124 |
| Discuții..... | 146 |
| Capitolul 6. Studiul imunohistochimic al precancerelor epiteliale..... | 164 |
| Importanța studiului imunohistochimic..... | 164 |
| Material și metodă..... | 164 |
| Rezultate..... | 174 |
| Discuții..... | 209 |
| Capitolul 7. Concluzii finale..... | 237 |
| Bibliografie..... | 241 |

CUVINTE CHEIE: carcinogeneza, apoptoza, precancere keratinocitare, carcinomul spinocelular, gena supresoare a tumorilor p53, Bcl-2, Ki67, E-cadherina, CD4+, CD8+, CD68.

STADIUL CUNOAȘTERII

Carcinogeneza keratinocitară se desfășoară în 4 etape succesive: inițierea, promovarea, progresia premalignă și conversia malignă, evenimente la care participă oncogenele și antioncogenele. Cele mai multe carcinoame, și în special carcinomul scuamos, evoluează prin tranziția de la displazie la carcinom in situ și apoi la carcinom invaziv. În domeniul cancerelor de piele, grupul celor cu patogeneză mixtă, genetică și ambientală, este cel mai important și majoritar, remarcându-se corelații între incidența carcinoamelor și fototipul cutanat. Factorul genetic intervine prin mecanismul mutației somatice, cancerul fiind indus de o alterare a aparatului genetic al celulei de origine a tumorii în cauză.

Recent au fost propuse următoarele evenimente cruciale necesare carcinogenezei: instabilitatea genomului, dereglarea ciclului celular, inducția unui mecanism de menținere a lungimii telomerelor și angiogeneza tumorală. În transformarea tumorilor solide sunt implicați o varietate de factori de creștere, asociindu-se cu stimularea angiogenezei și recurența timpurie a unor cancere viscerale, având și rol imunosupresor prin inhibarea maturării celulelor dendritice. O atenție deosebită se acordă celulelor stem cutanate, matrix-metaloproteinazelor, preconizându-se ca acestea să devină ținte terapeutice importante pentru terapia cutanată.

Studiile asupra oncogenelor au fost focalizate asupra reglării proliferării celulare și asupra controlului negativ al creșterii celulare: blocarea creșterii și apoptozei. Dezvoltarea carcinoamelor a fost legată de variate căi de semnalizare, care implică oricare dintre genele supresoare ale tumorilor ca p53 sau Ras, Myc și familia Erb-B a receptorului tirozinkinazei.

Dintre factorii extrinseci implicați în carcinogeneza, o atenție deosebită am acordat procesului de fotocarcinogeneza, carcinogenezei provocate de virusuri, carcinogenezei chimice, prin radiații ionizante, detaliind mecanismele implicate. Imunodeficiența constituie un factor favorizant în apariția cancerului și în evoluția sa spre metastazare.

Studiul prezent se concentrează asupra precancerelor epiteliale keratinocitare precursore carcinomului spinocelular localizate pe zonele fotoexpuse, și anume:

keratozele actinice, cheilitele actinice, cornul cutanat, boala Bowen și keratoacantomul. În ultimii ani se încearcă redefinirea keratozelor actinice, keratoacantomului ca neoplazii maligne, considerându-le carcinoame spinocelulare superficiale intraepiteliale în evoluție și respectiv forme particulare de CSC. Lucrarea detaliază mecanismele prin care radiațiile UV intervin în dezvoltarea de precancere keratinocitare și eventual CSC, și prezintă date recente referitoare la alterațiile moleculare referitoare la cancer (mutații ale p53, supraexpresia telomerazei, aberații cromozomiale similare) susținând legătura genetică a acestor leziuni cu CSC și eventuala natură malignă a unor leziuni considerate clasic precancere.

Numeroaselor aspecte clinice întâlnite le corespund o varietate de tipuri histopatologice, fapt care confirmă importanța examenului histopatologic în diagnosticul acestor leziuni și în evidențierea malignizării. Un alt aspect controversat îl reprezintă modalitatea evolutivă, posibilitatea regresiei leziunilor, potențialul de metastazare a unor leziuni.

Majoritatea studiilor arată creșterea nivelurilor p53 și p63 în celulele lezionale, de asemenea, s-a raportat o expresie sporită de markeri pro apoptotici și de proliferare celulară ca bcl-2 și Ki67, creșterea expresiei ciclooxigenazei-2, E-cadherinei, PCNA. Colorațiile imunoperoxidazice pot fi folosite în diferențierea unor tipuri de precancere și diferențierea de CSC, deși există încă numeroase controverse legate de utilitatea markerilor imunohistochimici.

CONTRIBUȚII PROPRII

STUDIUL CLINIC AL PRECANCERELOR KERATINOCITARE.

Lotul studiat a cuprins 557 pacienți internați pe o perioadă de 5 ani, între 1 ianuarie 2006 – 31 decembrie 2010, în Clinica de Dermatologie din Craiova; doar 224 precancere epiteliale precursora CSC localizate pe tegumente fotoexpuse, au fost *diagnosticate histopatologic*, în 87 de cazuri fiind evidențiată malignizarea leziunilor. Datele statistice obținute arată că, keratozele actinice au reprezentat 39,29% din cazuri, urmate de keratoacantom (36,16%), cornul cutanat (10,71%), cheilite actinice (9,37%), Boala Bowen (4,47%). Vârsta a fost cel mai important factor de risc pentru dezvoltarea precancerelor keratinocitare și a CSC; cele mai multe cazuri observându-se în decada 7 și 8 de viață. Frecvența cea mai mare a cazurilor transformate malign fiind în decada 8 de viață. Nu există o predispoziție legată de sex, deși keratozele actinice, cornul cutanat, keratoacantomul și boala Bowen au fost observate mai frecvent la femei, dar fără semnificație statistică, doar cheilitele

actinice apărând mai frecvent la bărbați (68,42%). Rolul expunerii cumulative la ultraviolete în etiopatogenia precancerelor keratinocitare este susținut de localizarea leziunilor pe tegumente expuse cronic la soare, localizarea la nivelul extremității cefalice reprezentând 85,22% din cazurile de keratoze actinice, 83,33% din cazurile de cornul cutanat, 87,65% din keratoacantoame și 80% din leziunile de boală Bowen. Analiza fototipului a relevat prezența tipurilor I, II și III la 65-90% dintre pacienți. Precancererele keratinocitare au avut o distribuție relativ egală pe medii de proveniență, cu excepția cheilitei actinice care apare în 90,47% din cazuri la pacienții din mediul rural ($p=0,001$), cheilitele actinice malignizate întâlnindu-le la 91,66% din cazurile din mediul rural; mediul rural reprezintă astfel un factor de risc semnificativ pentru apariția cheilitei actinice și pentru malignizarea acesteia, dar nu și pentru celelalte precancere cutanate, fapt care demonstrează că rezidența reprezintă doar unul dintre factorii implicați în dezvoltarea acestora. Acuratețea diagnosticului clinic de keratoză actinică a fost de 21,90%, 57,10% din cazurile subdiagnosticate fiind considerate carcinoame bazocelulare. Pentru cheilita actinică acuratețea diagnosticului clinic a fost de numai 32%, cel mai frecvent fiind diagnosticată drept CSC. Acuratețea diagnosticului clinic pentru cornul cutanat, keratoacantom și boala Bowen a fost de 83,33%, 72,84% și respectiv 50%. Suspiciunea clinică de transformare malignă pentru cazurile la care examenul histopatologic evidențiază transformarea malignă a fost de 47,12%.

În ceea ce privește aspectele clinice întâlnite în lotul studiat am observat ponderea crescută a formei clinice de keratoză actinică hipertrofică (71,59%), iar polimorfismul crescut al acesteia explică numeroasele diagnostice clinice prezumtive întâlnite. Dintre formele clinice de cheilită actinică am observat predominanța formei keratozice intermediare (50%), urmată de aspectul de cheilită cronică descuamativă (39,47%) și cheilită abrazivă Anzilotti-Manganotti (10,47%). Boala Bowen cu leziuni unice am întâlnit-o în 90% din cazuri, dintre formele clinice particulare am întâlnit doar un caz de boală Bowen cu leziuni multiple. Keratoacantomul îmbracă o multitudine de aspecte clinice, remarcându-se ponderea crescută a formelor clinice solitare (98,76%), iar dintre acestea preponderența formei tipice (86,25%). Progresia precancerelor keratinocitare în carcinom spinocelular se datorează în special expunerii cronice la radiații ultraviolete, în special UVB; am notat apariția malignizării în 64,19% din keratoacantoame, 57,14% din cheilitele actinice, 20,45% din keratozele actinice, 20% din boala Bowen, 12,5% din cazurile de corn cutanat.

Suspiciunea clinică de evoluție spre transformare malignă a fost de 27,77% pentru keratozele actinice, de 75% pentru cheilita actinică, de 66,66% pentru cornul cutanat, pentru boala Bowen de 50%, iar pentru keratoacantom de 17,34%.

STUDIUL HISTOLOGIC AL PRECANCERELOR KERATINOCITARE

Studiul histopatologic a cuprins 224 de cazuri, în majoritatea cazurilor efectuându-se secțiuni histologice multiple, pentru formarea unei imagini asupra tumorii în întregime. Studiul histologic a vizat următoarele obiective: aprecierea gradului de diferențiere celulară; aprecierea polimorfismului histologic comparativ cu aspectul clinic; aprecierea gradului de invazie al structurilor învecinate; răspunsul sau reacția țesuturilor gazdă la prezența tumorii; rolul barierei imune peritumorale; analiza detaliată a zonei peritumorale.

Încadrarea în subtipuri histologice a celor 88 de keratoze actinice (**tabelul nr. 1**) s-a făcut în funcție de aspectul tumorii, prezența hiperpigmentării melanice a unor celule din straturile profunde ale epidermului, atrofia stratului spinos și aspectul joncțiunii dermo-epidermice, prezența de fante sau lacune acantolitice, prezența acantozei, papilomatozei, a celulelor anaplazice.

| Subtip histologic | Număr cazuri | Procent (%) |
|---|---------------------|--------------------|
| Ka hipertrofică | 58 | 65,93 |
| Ka bowenoidă | 1 | 1,15 |
| Ka acantolitică | 2 | 2,28 |
| Ka atrofică | 4 | 4,55 |
| Ka pigmentată | 3 | 3,41 |
| Ka inflamată | 2 | 2,28 |
| Ka cu zone de carcinom in situ (CIS) | 4 | 4,55 |
| Ka cu zone de microcarcinom | 7 | 7,98 |
| Ka cu zone de CIS și microcarcinom | 3 | 3,41 |
| Ka cu zone de carcinom spinocelular moderat diferențiat | 4 | 4,55 |

Tabelul nr. 1.
Distribuția keratozelor actinice (Ka) în funcție de aspectul histopatologic

În 18 cazuri (20,45%) examenul histopatologic evidențiază malignizarea keratozelor actinice: Ka cu zone de carcinom in situ (CIS) – 22,22%, Ka cu zone de CIS și microcarcinom -16,68%, Ka cu zone de microcarcinom – 38,8%, Ka cu zone de carcinom spinocelular moderat diferențiat - 22,22%. La cazurile malignizate, am observat accentuarea hiperkeratozei, prezența diskeratozei, prezența atipiilor și invariabil prezența în derm a infiltratului inflamator intens limfoplasmocitar mai abundent și mai dens.

În cheilitele actinice transformarea malignă, de asemenea numai în CSC, a fost confirmată în 57,15% din cazuri: cheilită actinică cu CIS în 25,01% din cazuri, cheilită actinică cu zone de microcarcinom în 58,33% din cazuri și cheilită actinică cu CSC

bine diferențiat invaziv în 16,66% din cazuri. Efectuarea secțiunilor multiple a permis evidențierea zonei de carcinom in situ. Infiltratul inflamator reacțional de la acest nivel este mai dens și marchează iminența ruperii membranei bazale. Toate cazurile malignizate sunt caracterizate de infiltratul inflamator mai intens, care reprezintă un marker pentru un carcinom scuamos adiacent.

12,5% din leziunile de corn cutanat au fost transformate în carcinom scuamos; posibilitatea existenței unui cancer cutanat la baza cornului trebuie avută în vedere în special la persoane vârstnice cu expunere cronică la soare. În general vechimea leziunii se corelează cu displazia și prezența infiltratului inflamator cronic abundent și cu tendința de evoluție spre malignizare.

În cazurile de boală Bowen, atât în cazurile cu leziuni unice cât și în forma cu leziuni multiple, aspectul histopatologic este identic, sugestiv pentru diagnosticul de carcinom in situ. Invazia dermică am observat-o la 20% din cazuri, aceasta producându-se inițial într-o zonă limitată, evidențiindu-se zona de carcinom in situ și microcarcinom, iar într-un caz imaginea este de CSC invaziv, infiltratul inflamator devenind abundent.

Au fost diagnosticate 81 de keratoacantoame, dintre care doar 29 de cazuri (35,80%) fără malignizare. Leziunile au tendință la persistență și evoluție spre un carcinom scuamos invaziv. Astfel, am observat progresia procesului neoplazic de la keratoacantom spre keratoacantom cu displazie, keratoacantom cu zone de carcinom in situ (3,84%), keratoacantom cu microcarcinom (46,15%), keratoacantom cu CSC invaziv bine diferențiat (26,92%), moderat diferențiat (19,25%) sau acantolitic (3,84%). Creșterea nivelului de invazie se corelează cu accentuarea infiltratului stromal inflamator, uneori observându-se o reacție inflamatorie gigantocelulară de corp străin.

STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL PRECANCERELOR KERATINOCITARE

Studiul imunohistochimic s-a realizat pe 28 precancere cutanate precursoare carcinomului spinocelular, localizate pe tegumente fotoexpuse (keratoză actinică, cheilită actinică, corn cutanat, keratoacantom, boala Bowen).

Obiectivele majore ale studiului imunohistochimic au fost: evidențierea expresiei p53, bcl2, Ki67, PCNA, COX-2, proteine asociate apoptozei și ciclului celular, în vederea stabilirii rolului lor în progresia tumorală și malignizarea precancerelor epiteliale cutanate; evaluarea expresiei proteinei de adeziune celulară E-cadherina; utilitatea acestor anticorpi în diferențierea de carcinomul spinocelular (CSC);

evidențierea implicării răspunsului imun, cu ajutorul anticorpilor anti-CD4 (limfocite T helper), anti-CD8 (limfocite T citotoxice), anti-CD45Ro (limfocite T cu memorie), anti-CLA (antigenul leucocitar comun), anti-CD68 (macrofage), în stroma intratumorală și peritumorală a precancerelor epiteliale. Metoda utilizată în cadrul studiului imunohistochimic a fost una dintre metodele bazate pe complexe imunoenzimatice solubile, numită LSAB/HRP (labelled streptavidin biotin). Chitul utilizat a fost DAKO LSAB 2 System HRP (Universal DAKO Labelled Streptavidin Biotin 2 System Horseradish Peroxidase).

Expresia p53 a fost întâlnită în toate keratozele actinice; aceasta fiind mai mare în tipul hipertrofic de keratoză actinică, fapt care poate susține un număr mai mare de celule cu mutații ale p53 și rezistența mai mare a celulelor acestui tip de keratoză la apoptoză. Toate cheilitele exprimă p53, intensitatea expresiei fiind crescută în formele malignizate, sugerându-se implicarea p53 în carcinogeneză dar fără să reprezinte un marker al transformării maligne. În cornul cutanat intensitatea imunomarcajului a fost slabă, fapt care se corelează cu gradul scăzut al displaziei în aceste leziuni. Intensitatea imunomarcajului p53 în keratoacantom este corelată cu gradul displaziei și prezența malignizării. Utilitatea p53 în diferențierea keratoacantomului de CSC este controversată, dar evidențiază o populație keratinocitară care poate avea un potențial de creștere agresivă. În boala Bowen am observat un imunomarcaj nuclear pozitiv de intensitate moderată pentru p53 în cele 2/3 inferioare ale epidermului, pe alocuri în toată grosimea epidermului.

80% din keratozele actinice studiate, indiferent de tipul histologic, au exprimat bcl-2, cu distribuție difuză în 80% din cazuri. Pattern-ul distribuției a constatat pozitivitatea maximă citoplasmatică în keratinocitele bazale și uneori în straturile superioare ale epidermului. În cornul cutanat am constatat pattern-ul similar al expresiei bcl-2 cu cel din keratozele actinice hipertrofice, iar în cheilita actinică nu am observat imunomarcaj pozitiv pentru bcl-2. În keratoacantom se evidențiază imunomarcaj pozitiv citoplasmatic pentru bcl-2 în 70% din cazurile studiate. În boala Bowen am observat imunomarcaj citoplasmatic pozitiv de intensitate slabă pentru bcl-2. Creșterea expresiei bcl-2 în straturile suprabazale este asociată cu hiperproliferarea epidermică și rezistență la apoptoză, fapt care va promova progresia tumorii și invazia tumorală.

Toate precancerolele studiate cu excepția cheilitelor actinice au fost pozitive citoplasmatic pentru COX-2, intensitatea imunoexpresiei fiind slabă sau moderată.

Intensitatea imunomarcajului COX-2 este un marker util în diferențierea keratoacantomului de CSC. Imunoexpresia E-cadherinei a fost studiată în 22 de leziuni precanceroase, fiind detectată în 63,63% din acestea, intensitatea și proporția celulelor care exprimă acest marker precum și distribuția celulelor variind în funcție de precancerul studiat. Expresia Ki67 a fost detectată în toate precancerile epiteliale studiate. Creșterea displaziei și apariția malignizării se corelează cu o imunoexpresie intens pozitivă, creșterea numărului de celule pozitive, distribuția difuză a imunomarcajului în toate cazurile, fapt care sugerează o activitate proliferativă mai mare. Expresia Ki-67 arată un pattern periferic în keratoacantom spre deosebire de carcinomul scuamos, unde este mai difuz. Expresia PCNA a fost detectată în toate precancerile epiteliale studiate, toate leziunile prezentând imunomarcaj nuclear pozitiv pentru PCNA. În keratozele actinice hipertrofice intensitatea imunoexpresiei și numărul celulelor pozitive este mai mare comparativ cu keratozele actinice atrofile; iar în formele malignizate apare pozitivitate difuză în zona de microcarcinom. Majoritatea keratinocitelor epidermice atipice au fost pozitive pentru PCNA, observând o corelație pozitivă cu expresia p53 și Ki67. În cazurile malignizate de cheilită actinică se observă o corelație strânsă între expresia PCNA, Ki67 și p53. În cornul cutanat imunomarcajului PCNA este moderat și intens pozitiv difuz în mai puțin de 50% din celule. Am observat o expresie asemănătoare cu Ki67, putând sugera o corelație între cei doi markeri, potențialul de malignizare fiind mai scăzut.

În keratoacantom, intensitatea marcajului PCNA a fost moderată în 70% din cazuri și slabă în restul cazurilor. Am observat un pattern periferic al expresiei în formele cu displazie ușoară, iar la formele cu displazie moderată și hiperplazie pseudo-epiteliomatoasă proporția celulelor afectate crește, afectând difuz între $\frac{1}{2}$ și $\frac{2}{3}$ din epiderm. În prezența malignizării observăm o distribuție difuză a imunomarcajului în zona de carcinom. În boala Bowen, PCNA a fost exprimat nuclear pozitiv în toate cazurile, observând o distribuție difuză a marcajului, cu intensitate moderată și intens pozitivă, procentul de celule pozitive fiind peste 50% în toate cazurile. Expresia PCNA a fost corelată cu expresia Ki67.

Imunomarcajul pentru CD45 - antigenul leucocitar comun (CLA), a fost moderat sau intens pozitiv în toate precancerile studiate, sugerând prezența unui infiltrat inflamator reacțional predominant limfocitar sau limfo-plasmocitar, la care se adaugă histiocite, neutrofile, eozinofile. Distribuția a fost difuză în special sublezional, infiltratul fiind mai dens în formele inflamate sau cu prezența malignizării.

Imunomarcajul pozitiv membranar pentru CD45RO a fost observat în 95,45% din cazurile studiate, acest marker evidențiind limfocitele T mature din infiltratul inflamator. Imunomarcajul pozitiv pentru CD4+ a fost observat în 50% din cazurile studiate. În keratozele actinice prezența malignizării se corelează cu creșterea populației T helper din infiltratul inflamator reacțional dermic. În cheilita actinică și boala Bowen imunomarcajul CD4+ a fost negativ.

Imunomarcajul pozitiv pentru CD8+ a fost observat în 91,66% din cazurile studiate, la suprafața membranei. În keratozele actinice imunomarcajul pozitiv pentru CD8+ a fost observat în 83,33% din cazuri, intensitatea imunomarcajului fiind slab pozitivă în limfocite izolate din dermul superficial, în formele malignizate imunomarcajul având o intensitate moderată cu distribuție în celule izolate din dermul superficial. În cheilitele actinice observăm același marcaj pozitiv cu intensitate moderată, cu distribuție în rare limfocite interstițiale și cu distribuție focală în formele malignizate. În boala Bowen imunomarcajul este moderat pozitiv dens, în frecvente limfocite la joncțiunea epitelio-stromală și în toată grosimea epidermului. Observăm în cazurile studiate predominanța populației T citotoxice în infiltratul inflamator reacțional. Imunomarcajul pozitiv CD68 a fost observat în 81,81% din cazurile studiate, pattern-ul colorației fiind citoplasmatic difuz sau granular. În keratozele actinice am observat imunomarcaj moderat pozitiv CD68 în macrofage izolate subepidermic în toate cazurile studiate. Prezența malignizării s-a corelat în două cazuri cu creșterea afluxului de macrofage, imunohistochimic concretizându-se printr-un imunomarcaj moderat pozitiv în frecvente macrofage subepidermice. În cheilitele actinice am observat în toate cazurile un imunomarcaj moderat pozitiv CD68 în rare macrofage subepiteliale. În boala Bowen nu am evidențiat imunomarcajul pozitiv pentru CD68.

CONCLUZII FINALE

1. Keratozele actinice (39,29%) și keratoacantomul (36,16%) reprezintă cele mai frecvente precancere epiteliale întâlnite în lotul studiat. Frecvența keratoacantomului este de 3-4 ori mai mare decât cea raportată de alți autori.

2. Vârsta a fost cel mai important factor de risc pentru dezvoltarea precancerelor keratinocitare; frecvența precancerelor și a malignizării acestora crește cu vârsta, persoanele cu vârsta între 51 și 90 de ani reprezentând 90% din cazuri. Nu există o predispoziție legată de sex sau de mediul de proveniență, deși incidența a fost mai

mare la femei (cu excepția cheilitei actinice) și în mediul rural (exceptând boala Bowen).

3. Peste 80% din precancere sunt localizate la nivelul extremității cefalice sau pe tegumente fotoexpuse. Analiza fototipului a relevat prezența tipurilor I, II și III la 65-90% dintre pacienți, în funcție de tipul precancerului.

4. Acuratețea diagnosticului clinic pentru toate precancerurile epiteliale a fost de numai 49,55%, iar suspiciunea clinică de transformare malignă a fost de 47,12%. Keratozele actinice au cea mai mică acuratețe diagnostică datorită polimorfismului lezional.

5. Ca forme clinice au dominat keratoza actinică hipertrofică (71,59%), cheilita keratozică intermediară (50%), boala Bowen cu leziuni unice (90%) și keratoacantomul solitar forma tipică (86,25%).

6. Am constatat transformarea malignă în 64,19% din keratoacantoame, 57,14% din cheilitele actinice, 20,45% din keratozele actinice, 20% din boala Bowen, 12,5% din cazurile de corn cutanat și numai în carcinom scuamos. Nu există trăsături clinice care să pledeze 100% pentru caracterul benign sau malign, în consecință examenul histopatologic trebuie utilizat pentru confirmarea diagnosticului precancerelor epiteliale, mai ales că de multe ori aspectul clinic de precancer corespunde unui CSC evidențiat histopatologic.

7. Pentru keratozele actinice cel mai mare risc de transformare îl au leziunile groase, hiperkeratozice și cele ulcerate. Apariția malignizării s-a corelat pozitiv cu înaintarea în vârstă, cu infiltrarea leziunii, apariția durerii (în 50% din cazuri se corelează cu malignizarea), precum și mărimea leziunii.

8. În cheilitele actinice transformarea malignă s-a corelat cu prezența leziunilor keratozice ulcerate sau erozive (semnale de alarmă pentru malignizare). Toate cazurile malignizate sunt caracterizate de infiltratul inflamator intens, care reprezintă un marker pentru un carcinom scuamos adiacent.

9. În cornul cutanat vechimea leziunii se corelează cu displazia și prezența infiltratului inflamator cronic abundent și cu tendința de evoluție spre malignizare.

10. Cazurile de boală Bowen malignizate au prezentat ulcerația și infiltrația leziunii ca semne clinice de alarmă pentru transformarea malignă. Invazia dermică am observat-o la 20% din cazuri.

11. Keratoacantomul are tendință la persistență și evoluție spre un carcinom scuamos invaziv; astfel, am observat progresia procesului neoplazic de la

keratoacantom spre keratoacantom cu displazie, keratoacantom cu zone de carcinom in situ (3,84%), keratoacantom cu microcarcinom (46,15%), keratoacantom cu CSC invaziv bine diferențiat (26,92%), moderat diferențiat (19,25%) sau acantolitic (3,84%).

12. Precancererele epiteliale indică injuria solară de lungă durată și permit identificarea unui grup populațional cu risc mare de dezvoltare a CSC, CBC sau a melanomului. În 33% din precancererele studiate am observat asocierea cu cancer cutanate, predominant carcinoame.

13. Expresia p53 a fost întâlnită în toate precancererele studiate, mai intens în keratozele actinice hipertrofice, în cheilita actinică malignizată și keratoacantom; intensitatea imunomarcajului p53 se corelează cu gradul displaziei și prezența malignizării. Imunomarcajul p53 este util în evidențierea unei populații keratinocitare care poate avea un potențial de creștere agresivă.

14. Nu am observat diferențe semnificative în ceea ce privește intensitatea imunoexpresiei bcl2 și proporția de celule pozitive între cazurile malignizate și nemalignizate. În boala Bowen creșterea expresiei bcl-2 în straturile suprabazale este asociată cu hiperproliferarea epidermică și rezistență la apoptoză, fapt care va promova progresia tumorii și invazia tumorală.

15. Intensitatea imunoexpresiei COX-2 este slabă sau moderată în toate precancererele epiteliale studiate. Nu am observat diferențe semnificative în ceea ce privește intensitatea imunoexpresiei COX-2 și proporția de celule pozitive între cazurile malignizate și nemalignizate, dar în cazurile malignizate am constatat un imunomarcaj citoplasmatic moderat pozitiv în zona de displazie și în rare celule din stratul bazal.

16. Imunoexpresia E-cadherinei a fost negativă în toate cheilitele actinice și în majoritatea keratozelor actinice; în keratoacantom 50% din cazurile studiate au prezentat imunomarcaj pozitiv citoplasmatic pentru E-cadherină, distribuția marcajului fiind focală în zonele de epiderm normal, imunomarcajul fiind negativ în zonele de displazie și de carcinom.

17. Expresia Ki67 a fost detectată în toate precancererele epiteliale studiate. Toate keratozele actinice studiate, indiferent de tipul histologic exprimă Ki67, intensitatea imunoexpresiei fiind mai mare în cazurile malignizate. Am observat o corelație pozitivă a expresiei p53 cu imunoreactivitatea Ki-67, în zone cu activitate proliferativă crescută în keratozele actinice și cornul cutanat.

18. Expresia Ki-67 în keratoacantom arată un pattern periferic spre deosebire de carcinomul scuamos, unde este mai difuz, numărul de celule Ki-67 pozitive în keratoacantom fiind mai redus decât în carcinomul spinocelular (elemente de diferențiere IHC). În keratoacantoamele cu hiperplazie pseudoepiteliomatoasă se observă creșterea numărului de celule pozitive până la 1/3 din epiderm, distribuția fiind difuză. În keratoacantoamele malignizate imunomarcajul este difuz, în zona de carcinom în aproximativ 30% din celulele tumorale.

19. În boala Bowen, cazurile studiate au prezentat imunomarcaj pozitiv difuz nuclear pentru Ki67 în mai mult de 50% din celule, evidențiind atipiile nucleare și mitozele atipice specifice carcinomului in situ.

20. În keratozele actinice hipertrofice intensitatea imunomarcajului PCNA este mai mare iar distribuția difuză până la 2/3 din epiderm, spre deosebire de formele atrofile. Majoritatea keratinocitelor epidermice atipice au fost pozitive pentru PCNA, observând o corelație pozitivă cu expresia p53 și Ki67.

21. Cazurile nemalignizate de cheilită actinică exprimă PCNA mai puțin decât cele malignizate. În cazurile malignizate se observă o corelație strânsă între expresia PCNA, Ki67 și p53.

22. În keratoacantom, am observat un pattern periferic al expresiei PCNA în formele cu displazie ușoară, iar la formele cu displazie moderată și hiperplazie pseudo-epiteliomatoasă proporția celulelor afectate crește, afectând difuz între 1/2 și 2/3 din epiderm. În prezența malignizării observăm o distribuție difuză a imunomarcajului în zona de carcinom.

23. În boala Bowen, PCNA a fost exprimat nuclear pozitiv în toate cazurile, observând o distribuție difuză a marcajului, cu intensitate moderată și intens pozitivă, procentul de celule pozitive fiind peste 50% în toate cazurile. Expresia PCNA a fost corelată cu expresia Ki67.

24. Imunomarcajul CD45(CLA) a fost mai dens în formele inflamate sau cu prezența malignizării. Keratozele malignizate au exprimat moderat sau intens pozitiv CD45RO în frecvente limfocite din infiltratul inflamator din derm, predominant peritumoral.

25. Imunomarcajul pozitiv membranar pentru CD45RO a fost observat în 95,45% din cazurile studiate. În cheilitele actinice cu sau fără malignizare infiltratul inflamator este polimorf cu frecvente plasmocite, rare limfocite și rare leucocite PMN. În keratoacantoamele malignizate și boala Bowen imunomarcajul a fost pozitiv cu

intensitate moderată în frecvente limfocite interstițiale, fiind mai abundent în special sub leziune.

26. În precanceralele keratinocitare răspunsul imun al țesutului epitelial este încă eficient, fapt susținut de păstrarea capacității keratinocitelor de activare a limfocitelor T helper CD4+; alterarea mecanismelor de imunoapărare având un rol important în transformarea acestora în CSC. În keratozele actinice malignizate imunomarcajul a fost pozitiv în frecvente limfocite T helper, care constituie principala populație limfocitară din infiltratul inflamator reacțional dermic. În cheilita actinică și boala Bowen imunomarcajul CD4+ a fost negativ.

27. Imunomarcajul pentru CD8+ a fost mai intens și mai difuz în formele malignizate, atât în keratoze cât și în cheilitele actinice și boala Bowen demonstrând predominanța populației T citotoxice în infiltratul inflamator reacțional mai abundent și alterarea răspunsului imun .

28. Prezența malignizării s-a corelat în keratozele actinice cu creșterea afluxului de macrofage, imunohistochimic concretizându-se printr-un imunomarcaj CD68 moderat pozitiv în frecvente macrofage subepidermice. În cheilitele actinice am observat în toate cazurile un imunomarcaj moderat pozitiv CD68 în rare macrofage subepiteliale.

29. Keratozele actinice, keratoacantomul și boala Bowen sunt predictorii puternici ai riscului de dezvoltare a carcinoamelor cutanate și a melanomului. Chiar dacă aceste leziuni clinic sunt considerate benigne, argumentele epidemiologice, de genetică moleculară și histologie, care evidențiază strânsa legătură între acestea și riscul de dezvoltare a CSC, trebuie să impună o atitudine terapeutică promptă și o monitorizare atentă.