

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

TEZĂ DE DOCTORAT

**Studiul factorilor de agresivitate în carcinomul bazocelular- corelații
clinice, histopatologice și imunohistochimice**

REZUMAT

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

STUDENT-DOCTORAND: ENACHE ANDREEA-OANA

CRAIOVA 2019

CUPRINS

INTRODUCERE

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL I. Epidemiologie și factori de risc în carcinomul bazocelular

CAPITOLUL II. Carcinogeneza cutanată

CAPITOLUL III. Criterii de diagnostic și factori de prognostic în carcinomul bazocelular

CONTRIBUȚII PROPRII

MOTIVAȚIA ȘI SCOPUL STUDIULUI

CAPITOLUL IV. MATERIAL ȘI METODE

CAPITOLUL V. REZULTATE

V.A. Studiul clinico- epidemiologic și dermatoscopic al carcinoamelor bazocelulare

V.B. Studiul histopatologic al carcinoamelor bazocelulare

V.C. Studiul imunohistochimic al carcinoamelor bazocelulare

CAPITOLUL VI. DISCUȚII

VI.A. Discuții asupra studiului clinico-epidemiologic al carcinoamelor bazocelulare

VI.B. Discuții asupra studiului dermatoscopic al carcinoamelor bazocelulare

VI.C. Discuții asupra studiului histopatologic al carcinoamelor bazocelulare

VI.D. Discuții asupra studiului imunohistochimic al carcinoamelor bazocelulare

CAPITOLUL VII. CONCLUZII

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

INTRODUCERE

Carcinoamele cutanate reprezintă aproximativ 90-95% din totalitatea cancerelor cu această localizare. Având în vedere creșterea activității solare din ultimii ani, reducerea continuă a stratului de ozon, expunerea excesivă la soare a tinerilor, se estimează că vor fi creșteri importante ale cancerelor cutanate la nivel global [155, 227].

Carcinomul bazocelular reprezintă aproximativ 80% din cancerele cutanate non-melanomatoase și este cea mai frecventă formă de cancer întâlnită la rasa albă. Este o tumoră cu extensie lentă și malignitate locală, cu rată înaltă de vindecare și un prognostic favorabil atunci când este diagnosticată în stadii precoce [136, 155].

În pofida acestui comportament relativ benign, există forme clinice agresive care produc distrucții tisulare locale semnificative, cu un important impact asupra calității vieții pacienților. Provocarea constă în stabilirea unui diagnostic corect într-un mod cât mai puțin invaziv [44, 248]. Dermatoscopia oferă o imagine detaliată a structurilor de suprafață, crește sensibilitatea și specificitatea în diagnosticul carcinomului bazocelular, dovedindu-se o metodă eficientă de screening.

Confirmarea diagnosticului necesită însă examinarea histopatologică a biopsiei cutanate [102, 228]. Diagnosticul histologic și clasificarea carcinoamelor bazocelulare sunt esențiale pentru determinarea tipului tumoral și a comportamentului său biologic.

Studiul realizat propune investigarea epidemiologică, clinică, dermatoscopică, histopatologică și imunohistochimică a carcinoamelor bazocelulare, în vederea stabilirii de relații statistice, care să susțină identificarea tipurilor de carcinom bazocelular cu risc crescut.

Cuvinte cheie: carcinom bazocelular, dermatoscopie, tip histopatologic, COX-2, EGFR, HER 2, Ki67, p53, Bcl-2, MMP-2 și TIMP-2

CAPITOLUL I. Epidemiologie și factori de risc în carcinomul bazocelular

În această capitol au fost descrise date din literatura de specialitate referitoare la epidemiologia tumorii, repartiția în funcție de grupele de vârstă, sex, localizare. De asemenea au fost descriși factorii de risc incriminați în apariția carcinomului bazocelular.

CAPITOLUL II. Carcinogeneza cutanată

În această secțiune au fost prezentate mecanismele implicate în carcinogeneza cutanată, precum și factorii, genele și proteinele incriminate.

CAPITOLUL III. Criterii de diagnostic și factori de prognostic în carcinomul bazocelular

Secțiunea a inclus cele mai recente date referitoare la aspectele clinice ale leziunilor, diagnosticul pozitiv și diferențial, precum și factorii clinici și histologici care pot influența prognosticul tumorii.

CONTRIBUȚII PROPRII

MOTIVAȚIA ȘI SCOPUL STUDIULUI

Studiul efectuat și-a propus o evaluare completă și amănunțită a carcinogenezei cutanate, cu accent pe carcinoamele bazocelulare, precum și identificarea factorilor implicați în evoluția nefavorabilă a unora dintre aceste tumori, cu scopul de a identifica posibile ținte prognostice și implicite terapeutice.

CAPITOLUL IV. MATERIAL ȘI METODE

Studiul a cuprins un număr de 390 de cazuri de carcinoame bazocelulare, diagnosticate în perioada 2015-2016.

Studiul **clinico-epidemiologic** a avut în vedere următorii parametri: sexul, vârsta și profesia pacienților; mediului de proveniență; modul de debut; stabilirea formei clinice; antecedentele personale patologice semnificative; diagnosticul clinic; localizarea tumorii; timpul scurs de la apariția tumorii; aspectele particulare legate de evoluție; aspectul dermatoscopic.

Studiul **histopatologic** al carcinoamelor bazocelulare investigate, a urmărit identificarea principalilor parametri histopatologici ai acestora în legătură cu prognosticul: paternul de creștere tumoral, profunzimea invaziei, invazia perineurală, modificările asociate, statusul limitelor de rezecție.

Pentru studiul **imunohistochimic** au fost selectate un număr de 50 de cazuri, cu diagnosticul de carcinom bazocelular nodular sau infiltrativ, pentru care s-a urmărit evaluarea expresiei unor markeri implicați în carcinogeneza cutanată, cum sunt COX-2, EGFR, HER 2, Ki67, p53, Bcl-2, MMP-2, TIMP-2.

Rezultatele obținute au fost supuse analizei statistice și s-au folosit teste statistice pentru evaluarea diferențelor dintre scorurile de imunoreactivitate obținute pentru fiecare tumoră în parte, considerând diferență semnificativă un nivel $p < 0.05$.

CAPITOLUL V. REZULTATE

În cadrul studiului *clinico-epidemiologic* am constatat că majoritatea pacienților au aparținut decadei a-7a de viață (39.2 %) și sexului feminin (57,7%), au provenit din mediul rural (55.9 %) și au prezentat leziuni predominant la nivelul extremității cefalice (82, 8%). Pentru 60.76 % dintre cazuri au

fost identificate manifestări clinice ale fotoîmbătrânirii cutanate (riduri accentuate, ceafa romboidală, lentigo solar etc). Toți pacienții au prezentat fototip II și III, fiind subliniată importanța predispoziției individuale către cancer. În studiu nostru am găsit toate formele clinice de carcinom bazocelular descrise în literatura de specialitate. Forma perlată a fost cea mai frecvent întâlnită (51,6%), fiind urmată de forma nodulară (19.5 %) și plan cicatricială. Din punct de vedere *dermatoscopic*, 15,1% din cazuri au fost carcinoame bazocelulare nepigmentate, restul fiind pigmentate (40%), ușor pigmentate (36,9%) și puternic pigmentate (8 %). În ceea ce privește prezența elementelor caracteristice diagnosticului de carcinom bazocelular din punct de vedere dermatoscopic, vasele arborescente, ramificate au fost cel mai frecvent întâlnite (180 cazuri).

Analiza *histopatologică* a indicat ca cel mai frecvent tip histologic a fost carcinomul bazocelular nodular (62.3 %), urmat în ordinea frecvenței de tipurile micronodular (11 %), superficial (10.8%) și bazoscuamos (0.8 %). Analiza stadializării Clark a indicat predominanța leziunilor aflate în stadiul IV (41.3%), urmate de stadiul III (39%), stadiul V cu 14.1 % și stadiul II cu 5.6 % din cazuri. Invazia perineurală a fost prezentă în 3 cazuri. Aspectul a fost identificat în tumori cu dimensiuni mari, de peste 7 cm în diametrul maxim, asociate cu invazia profundă, în țesutul osos sau muscular striat. Invazia vasculară a fost identificată doar într-un caz (0.3 %), din cele 390 carcinoame bazocelulare analizate, asociat și cu invazie perineurală. Analiza limitelor de rezecție chirurgicală, considerate sub 5 mm, a indicat faptul că acestea au fost neinvadate tumoral în 347 cazuri și au prezentat invazie tumorală în 43 de cazuri. În studiul nostru, invazia tumorală a fost identificată la nivelul unei singure margini de rezecție chirurgicală pentru un număr de 31 cazuri (7.9 %), dintre care în 14 cazuri a fost invadată limita profundă și în 17 cazuri una dintre limitele laterale. Invazia tumorală a fost identificată la nivelul a două limite de rezecție în 11 cazuri (2.8 %), iar pentru 1 caz (0,2 %) a fost prezentă invazia tuturor celor trei margini de siguranță chirurgicală. Am remarcat o serie de modificări asociate tumorilor cum sunt: ulcerarea (23.07%), elastoza senilă (64.10%), keratoza actinică (6.41%) și calcificările tumorale (0.51 %).

Analiza *imunohistochimică* a carcinoamelor bazocelulare a indicat faptul că imunoexpresia bcl-2, EGFR, HER2, TIMP2 a fost identificată în 76%, 74% 48 % respectiv 52% din carcinoamele analizate cazurile investigate cu valori ale SCM progresiv mai mari cu creșterea profunzimii invaziei tumorale pentru ambele forme investigate, diferențele scorurilor fiind semnificative statistic atât cu nivelul Clark cât și cu tipul tumoral. De asemenea, am observat relații liniare pozitive semnificative statistic ale p53, COX2 și Bcl-2 ($p < 0.001$, Pearson test), precum și ale Ki67, EGFR și HER2. Cu toate că valorile marcajelor receptorilor COX2 au fost superioare în carcinoamele bazocelulare aflate în stadii avansate, aspectul a fost ne semnificativ statistic. Imunocolorarea pentru MMP-2 a fost identificată în 44% din cazurile investigate, cu o intensitate a reacției scăzută pentru toate gradele de invazie la ambele forme investigate dar cu diferențe ne semnificative ale scorurilor MMP2 în raport cu tipul și stadiul tumoral.

CAPITOLUL VI. DISCUȚII

Carcinomul bazocelular reprezintă aproximativ 80% din totalul cancerelor cutanate. S-au raportat variații geografice ale incidenței carcinomului bazocelular: cele mai mari valori sunt raportate în Australia, unde se înregistrează peste 1200 cazuri/100 000 locuitori /ani [224].

Incidența carcinomului bazocelular continuă să crească la nivel global. Se estimează că aproximativ 2.5 milioane de cazuri noi sunt diagnosticate în fiecare an în SUA, rata de creștere anuală fiind de aproximativ 2%. În Europa rata de creștere anuală a fost de 5% în ultimele decade [155, 227].

Este cunoscut faptul că radiațiile actinice reprezintă principalul factor etiologic, peste 80% din carcinoamele bazocelulare având localizare la nivelul extremității cefalice, asemenea datelor obținute în studiul nostru [75].

Diagnosticul histologic și clasificarea carcinoamelor bazocelulare sunt esențiale pentru determinarea tipului tumoral și a comportamentului său biologic.

În prezent, sunt acceptate trei tipuri histopatologice majore ale carcinoamelor bazocelulare, cu corespondență clinică, reprezentate de tipurile nodular, superficial și infiltrativ, fiind descrise și multiple patenuri de creștere, cu rate diferite de agresivitate și recurență, așa cum sunt tipurile micronodular, adenoid, morfeiform, pigmentat, fibroepitelial, cu diferențieri anexiale sau scuamoase.

Invasia perineurală, este asociată cu tumori mari, agresive, iar riscul recidivelor tumorale la 5 ani este mai mare [144]. Acest lucru subliniază importanța exciziei tumorilor cu controlul limitelor de rezecție chirurgicală și monitorizarea pe termen lung a pacienților [144].

Există dovezi că COX-2 poate fi implicată în patogeneza carcinoamelor cutanate non melanomatoase [70]. Deși nu este clar rolul COX-2 în carcinogeneza cutanată, se crede că expresia COX-2 poate fi un rezultat al mutației p53 [264, 119]. Prin urmare, modularea COX-2 constituie un domeniu promițător investigat de mai multe grupuri de cercetare.

Oncoproteinele și genele supresoare, care sunt responsabile pentru exprimarea proteinelor: p53, bcl-2 și markerul de proliferare Ki-67, joacă un rol semnificativ în dezvoltarea și progresia cancerelor cutanate non melanomatoase [134, 296]

Studiile realizate asupra receptorilor factorului de creștere epidermică (EGFR), HER2, HER3 și HER4, indică expresia acestora în cazul tegumentului normal, rolul lor în apariția carcinoamelor bazocelulare nefiind pe deplin elucidate [240].

MMP-2 este în cea mai mare parte secretată de keratinocitele și celulele tumorale ale carcinoamelor bazocelulare [204]. Interacțiunea dintre fibroblastele stromale și celulele tumorale ale carcinoamelor bazocelulare afectează expresia MMP-2 derivat din fibroblaste, sugerând un efect semnificativ al acestei interacțiuni în dezvoltarea cancerului

TIMP-2 contribuie substanțial la comportamentul biologic al tumorilor tegumentare prin inhibarea semnificativă a capacității de a metastaza a celulelor tumorale [288].

CAPITOLUL VII. CONCLUZII

- Studiul *clinico-epidemiologic* a indicat că vârsta medie de diagnostic a pacienților a fost de 70,3 ani, incidența maximă constatată în intervalul 60 și 80 de ani (61,79%), predominant la sexul feminin, (57,7%);
- localizarea de elecție a fost la nivelul extremității cefalice (82.8%), restul cazurilor fiind distribuite la nivelul toracelui (15,1%) și membrelor (2.1 %);
- forma clinică cea mai frecvent întâlnită a fost forma perlată (51,6 %), fiind urmată de forma nodulară (19,5 %) și plan cicatricială (9 %)
- *dermatoscopia* a evidențiat: prezența ulcerăției (15.3%); vasele arborescente, ramificate (46.1%); globuli gri-albăștrui de diferite dimensiuni (24.3%); structuri foliacee, zone cafenii în frunză de arțar (30.7%); structuri în spiță de roată (17.4%); granulații de pigment brun și gri (13.8%).
- *studiul histopatologic* a indicat ca cel mai frecvent tip histologic a fost carcinomul bazocelular nodular (62.3 %), urmat în ordinea frecvenței de tipurile micronodular (11 %), superficial (10.8%) și bazoscuamos (0.8 %);
- invazia perineurală a fost identificată în 0.8 % din cazurile investigate, asociată tipului infiltrativ și sclerozant iar invazia vasculară a fost identificată în 0.3 % din cazurile investigate, asociată tipului infiltrativ.
- analiza stadializării Clark a indicat predominanța leziunilor aflate în stadiul IV (41.3%), urmate de stadiul III (39%), stadiul V cu 14.1 % și stadiul II cu 5.6 % din cazuri;
- pentru 7.9 % din cazuri am constatat invazia unei limite de rezecție laterale, a ambelor limite de rezecție laterale în 2.8% din cazuri, iar în 0.2 % din cazuri a fost prezentă invazia tuturor celor trei margini de siguranță chirurgicală.
- studiul *imunohistochimic* a urmărit expresia markerilor: ciclului celular (COX2), apoptozei (p53, bcl-2), proliferației (ki67), de creștere celulară (EGFR, HER2) și a markerilor stromali (MMP-2, TIMP-2).
- analiza expresiei COX2 a relevat pozitivitate în 88 % din cazurile analizate, cu valori ale SCM progresiv mai mari cu creșterea profunzimii invaziei tumorale pentru ambele forme investigate, dar diferențele scorurilor au fost ne semnificative statistic, atât cu nivelul Clark cât și cu tipul tumoral
- analiza p53 a relevat pozitivitate în 74 % din cazurile analizate, cu valori înalte ale SCM indiferent de profunzimea invaziei; analiza statistică a indicat diferențe semnificative ale scorurilor p53 în raport cu nivelul Clark și la limita semnificației statistice cu tipul tumoral, scorurile pozitive înalte fiind asociate tumorilor infiltrative cu nivel Clark înalt.

- analiza bcl-2, EGFR, HER2, TIMP2 a indicat pozitivitate în 76%, 74% 48 % respectiv 52% din cazurile investigate, cu valori ale SCM progresiv mai mari cu creșterea profunzimii invaziei tumorale pentru ambele forme investigate, diferențele scorurilor fiind semnificative statistic atât cu nivelul Clark cât și cu tipul tumoral.
- imunocolorarea pentru ki67 a fost identificată în 86% din cazurile investigate, cu valori ale IP progresiv mai mari cu creșterea profunzimii invaziei tumorale pentru ambele forme investigate, distribuția valorilor medii IPKi67 indicând diferențe semnificativ superioare în cazul carcinoamelor de tip infiltrativ ($p < 0.001$, Anova test) și aflate în stadii avansate ($p < 0.001$, Anova test).
- imunocolorarea pentru MMP-2 a fost identificată în 44% din cazurile investigate, cu o intensitate a reacției scăzută pentru toate gradele de invazie la ambele forme investigate, cu diferențe ne semnificative ale scorurilor MMP2 în raport cu tipul ($p = 0.121$, test χ^2) și stadiul tumoral ($p = 0.096$, test χ^2).

Bibliografie selectivă

44. Chinem VP, Miot HA. Epidemiology of basal cell carcinoma. *An Bras Dermatol.* 2011;86(2):292–305.
75. Farhi D, Dupin N, Palangié A, et al. Incomplete excision of basal cell carcinoma: Rate and associated factors among 362 consecutive cases, *Dermatologic Surgery*, 2007; 33(10):1207–1214.
102. Haws AL, Rojano R, Tahan SR, et al. Accuracy of biopsy sampling for subtyping basal cell carcinoma, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2012;66(1):106–111.
119. Karagece Yalçın U, Seçkin S. The expression of p53 and COX-2 in basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma and actinic keratosis cases. *Turk Patoloji Derg.* 2012;28(2):119-27.
134. Kramer E, Herman O, Frand J, et al. Ki67 as a biologic marker of basal cell carcinoma: a retrospective study. *Isr Med Assoc J.* 2014;16(4):229-232.
136. Kumar S, Mahajan BB, Kaur S, et al. A study of Basal cell carcinoma in South asians for risk factor and clinicopathological characterization: a hospital based study. *J Skin Cancer.* 2014;2014:173582.
144. Leibovitch I, Huilgol S, Selva D, et al. Basal cell carcinoma treated with Mohs surgery in Australia III. Perineural invasion. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53:458–463.
155. Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall F. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 2012; 166:1069–1080.
157. Machan M, Kroh JM, Hunt E, et al. Letter: basal cell carcinoma with vascular invasion. *Dermato*
204. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, et al. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(6): 868.1 Online J. 2012;18(4):13.

224. Richmond-Sinclair NM, Pandeya N, Ware RS et al. Incidence of basal cell carcinoma multiplicity and detailed anatomic distribution: longitudinal study of an Australian population. *J Invest Dermatol* 2009; 129:323–328
227. Rogers HW, Weinstock MA, Feldman SR et al. Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer (keratinocyte carcinomas) in the U.S. population, 2012. *JAMA Dermatol* 2015; 151:1081–1086.
264. Subbaramaiah K, Altorki N, Chung WJ, et al. Inhibition cyclooxygenase-2 gene expression by p53. *J Biol Chem* 1999, 274:10911-10915.
228. Roozeboom MH, Mosterd K, Winnepeninckx VJL, et al. Agreement between histological subtype on punch biopsy and surgical excision in primary basal cell carcinoma, *JEADV*, 2013;27(7):894–898.
240. Schneider MR, Yarden Y. The EGFR-HER2 module: a stem cell approach to understanding a prime target and driver of solid tumors. *Oncogene*. 2016; 35: 2949–2960.
248. Shrivastava R, Singh KK, Shrivastava M. Soft tissue metastasis in basal cell carcinoma. *Indian J Dermatol*. 2007;52:206–208.
288. Wagner SN, Ockenfels HM, Wagner C, et al. Differential expression of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 by cutaneous squamous and basal cell carcinomas. *J Invest Dermatol*. 1996;106(2):321-326.
296. Wikonkal NM, Berg RJ, van Haselen CW, et al. bcl-2 vs p53 protein expression and apoptotic rate in human nonmelanoma skin cancers. *Arch Dermatol*. 1997; 133(5):599-602