

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
CRAIOVA
FACULTATEA DE MEDICINĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

*CONTRIBUȚII LA STUDIUL
CARCINOMULUI BAZOCELULAR.
STUDIU HISTOLOGIC ȘI
IMUNOHISTOCHIMIC*

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Laurențiu MOGOANTĂ

Doctorand:

Constantina Claudia MATEOIU

CRAIOVA
2011

CUPRINS

Introducere.....	1
------------------	---

PARTEA GENERALĂ

CAPITOLUL I: Morfofiziologia organul cutanat	6
1.1. Morfologie macroscopică.....	6
1.2. Morfologie microscopică.....	7
1.2.1. <i>Morfologia microscopică a epidermului</i>	7
1.2.2. <i>Morfologia microscopică a dermului</i>	16
1.2.3. <i>Morfologia microscopică a hipodermului</i>	21
1.3. Anexele pielii.....	22
1.4. Vascularizația pielii.....	25
1.5. Inervația pielii.....	26
1.6. Funcțiile pielii.....	26
1.7. Ontogenia organului cutanat.....	27
CAPITOLUL II: Carcinogeneza cutanată.....	30
2.1. Factori etiologici implicați în carcinogeneza cutanată.....	30
2.1.1. <i>Radiațiile ultraviolete (UV)</i>	30
2.1.2. <i>Culoarea pielii</i>	32
2.1.3. <i>Predispoziția la arsuri solare și abilitatea de a se bronză</i>	33
2.1.4. <i>Factori constituționali și leziuni cutanate benigne</i>	33
2.1.5. <i>Riscul ereditar al tumorilor cutanate maligne</i>	33
2.1.6. <i>Alți factori de risc</i>	35
2.2. Alterări esențiale ale fiziologiei celulare cu rol în carcinogeneză.....	36
2.2.1. <i>Auto-suficiența semnalelor de creștere</i>	37
2.2.2. <i>Insensibilitatea la semnalele care inhibă creșterea</i>	38
2.2.3. <i>Evitarea apoptozei</i>	39
2.2.4. <i>Potențial replicativ nelimitat</i>	41
2.2.5. <i>Angiogeneza susținută</i>	42
2.2.6. <i>Invazia țesuturilor și metastazarea</i>	44
2.3. Clasificarea tumorilor cutanate.....	46

CAPITOLUL III: Carcinomul bazocelular.....	48
3.1. Epidemiologie.....	48
3.2. Patogenie.....	49
3.3. Diagnostic pozitiv și diferențial.....	52
3.3.1. <i>Diagnostic pozitiv</i>	52
3.3.1.1. <i>Aspecte morfoclinice</i>	52
3.3.1.2. <i>Aspecte microscopice</i>	54
3.3.1.3. <i>Aspectul la microscopia electronică</i>	61
3.3.1.4. <i>Caracteristici imunohistochimice</i>	62
3.4. Evoluție și prognostic.....	65
3.5. Tratament.....	66

PARTEA SPECIALĂ

CAPITOLUL IV: Studiul clinic.....	69
4.1. Material și metode.....	69
4.2. Rezultate.....	71
4.2.1. <i>Distribuția cazurilor de CBC raportată la vârsta, sexul și mediul de proveniență al pacienților</i>	71
4.2.2. <i>Distribuția cazurilor de CBC raportată la aspectul leziunilor</i>	74
4.3. Discuții.....	81
CAPITOLUL V: Studiul histologic.....	88
5.1. Material și metode.....	88
5.2. Rezultate.....	101
5.2.1. <i>Carcinomul bazocelular solid</i>	105
5.2.2. <i>Carcinomul bazocelular adenoid (pseudoglandular)</i>	107
5.2.3. <i>Carcinomul bazocelular keratinizat</i>	108
5.2.4. <i>Carcinomul bazocelular pigmentat</i>	110
5.2.5. <i>Carcinomul bazocelular metatipic (bazoscuamos)</i>	111
5.2.6. <i>Carcinomul bazocelular superficial</i>	112
5.2.7. <i>Carcinomul bazocelular chistic</i>	113
5.2.8. <i>Carcinomul bazocelular infiltrativ</i>	114
5.2.9. <i>Carcinomul bazocelular sclerodermiform</i>	116
5.3. Discuții.....	118

CAPITOLUL VI: Studiul imunohistochimic.....	125
6.1. Material și metode.....	125
6.2. Rezultate.....	145
6.2.1. <i>Rezultatele analizei expresiei citokeratinelor prin evaluarea expresiei Ber-EP4, 34βE12, AE1/AE3 și EMA.....</i>	146
6.2.2. <i>Rezultatele analizei factorilor de proliferare.....</i>	151
6.2.2.1. <i>Analiza factorilor de agresivitate în CBC superficial.....</i>	152
6.2.2.2. <i>Analiza factorilor de agresivitate în CBC nodular.....</i>	154
6.2.2.3. <i>Analiza factorilor de agresivitate în CBC sclerodermiform....</i>	156
6.2.2.4. <i>Analiza factorilor de agresivitate în CBC infiltrativ.....</i>	158
6.2.3. <i>Rezultatele analizei elementelor stromale peri- și intratumorale.....</i>	160
6.2.3.1. <i>Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei vimentinei.....</i>	160
6.2.3.2. <i>Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei αSMA.....</i>	162
6.2.3.3. <i>Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei colagenului IV.....</i>	164
6.2.3.4. <i>Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei CD34.....</i>	167
6.2.3.5. <i>Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei CD105.....</i>	168
6.2.3.6. <i>Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei CD44.....</i>	169

6.2.4. Rezultatele analizei elementelor inflamatorii.....	171
6.2.4.1. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T.....	172
6.2.4.1.1. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul FoxP3.....	172
6.2.4.1.2. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul IL 17.....	173
6.2.4.1.3. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul UCHL1.....	174
6.2.4.1.4. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul CD4.....	177
6.2.4.1.5. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul CD8.....	179
6.2.4.2. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor B cu ajutorul L26.....	181
6.2.4.3. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea celulelor dendritice cu ajutorul S100.....	182
6.2.4.4. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea mastocitelor cu ajutorul CD117.....	184
6.3. Discuții.....	186
CAPITOLUL VII: Discuții generale.....	200
CAPITOLUL VIII: Concluzii.....	206
BIBLIOGRAFIE.....	210

INTRODUCERE

Studiile clinice efectuate de-a lungul anilor, au acreditat ideea conform căreia tumorile keratinocitare sunt agresive, infiltrante, distructive și metastazante, trăsături similare cu cele ale oricărei neopazii maligne.

Obiectivul prezentei lucrări a fost să contribuie la înțelegerea comportamentului clinic și histopatologic al carcinomului bazocelular, bazându-se în special pe cazurile întâlnite în Secțiile de Dermatovenerologie și Chirurgie Plastică și Reparatrice din Spitalul Clinic Județean de Urgență din Craiova.

Am fost motivați de constatarea creșterii incidenței carcinomului bazocelular în ultimii ani și ajutați de faptul că am beneficiat pentru studiul histologic și imunohistochimic de materialul biologic existent în Laboratorul de Anatomie Patologică și Citologie din același spital.

Studiul a subliniat importanța patologiei tumorale maligne dermatologice atât prin numărul mare de cazuri studiate cât și prin incidența în creștere a carcinoamelor bazocelulare.

Această lucrare contribuie la reîntregirea referințelor bibliografice, cel puțin regionale referitoare la subiectul abordat.

Datele statistice au fost utilizate pentru a verifica existența sau nonexistența diferențelor semnificative și asocierilor între diferitele tipuri de CBC.

Cercetarea realizată are pe lângă aspectul teoretic și unul practic, de diagnostic și prognostic, ce permite evaluarea precisă a gravității stadiale a fiecărui caz în parte.

În prezenta lucrare am încercat să evaluez corelațiile morfofuncționale reciproce existente în tegumentul normal și epiteliomatos din zona oromaxilofacială cu unele aspecte clinice și de prognostic în scopul unei mai bune înțelegeri a dezvoltării și evoluției carcinoamelor bazocelulare.

Urmărirea caracteristicilor procesului neoplazic s-a realizat printr-un studiu clinic, unul histologic și unul imunohistochimic.

Studiul imunohistochimic a evaluat caracteristicile patologiei luate în studiu prin evaluarea citokinelor, în vederea stabilirii originii tumorale, a factorilor de proliferare și a elementelor stromale peri- și intratumorale, în vederea stabilirii caracteristicilor patofiziologice și evolutive ale tumorii, dar și a infiltratului inflamator, care deține promisiunea unor noi metode terapeutice sau preventive.

PARTEA GENERALĂ

CAPITOLUL I

MORFOFIZIOLOGIA ORGANULUI CUTANAT

Pielea reprezintă cel mai mare organ al corpului uman. Împreună cu celelalte organe și sisteme ale corpului tegumentul este implicat în menținerea sănătății și a unei stări de echilibru intern ale organismului în prezența unor factori constant variabili.

1.1. Morfologie macroscopică

Organul cutanat constituie o structură de înveliș a organismului uman care are particularități morfologice topografice, adaptate funcției. În structura lui intră și anumite derivate specializate cum sunt fanerele (părul și unghiile) și unele tipuri de glande. La un subiect de statura mijlocie, suprafața pielii este de cca. 1,5-2m² reprezentând aproximativ 16% din greutatea totală a corpului (între 11-18 kg). Culoarea sa, condiționată de mai mulți factori, depinde în primul rând, de caracteristicile proprii ale organului cutanat. Grosimea tegumentului variază între 0,2-4 mm în funcție de aria topografică, sex și vârstă. Cele mai groase tegumente le prezintă palmele și plantele (2-4 mm) și cele mai subțiri pleoapele (0,2 mm). Suprafața tegumentului nu este netedă; ea prezintă macroscopic orificii reprezentate de porii glandelor cutanate și ostiumurile foliculare și depresiuni care pot fii adânci constituind pliuri superficiale ce formează așa zisele “șanturi papilare”.

1.2. Morfologie microscopică

În structura organului cutanat intră atât *țesuturile epiteliale ale epidermului*, glandelor, fanerelor și sistemului melanoformator, cât și *țesuturile conjunctive ale dermului și hipodermului*. Există și autori care susțin că, pielea este constituită numai din epiderm și derm, hipodermul fiind un țesut conjunctivo-adipos care leagă pielea de organele subiacente.

1.2.1. Morfologia microscopică a epidermului

Epidermul este un epiteliu pavimentos, stratificat cu keratinizare, ondulat și în continuă regenerare, de origine ectodermică. Se apreciază că 90-95% din celule componente ale epidermului sunt keratinocite, așezate stratificat, din profunzimea epidermului până la suprafața sa descriindu-se, după aspectul microscopic, proprietățile structurale și afinitățile tinctoriale 6 straturi: *bazal*, *spinos*, *granulos*, *lucios*, *cornos conjunct* și *cornos disjunct*.

1.2.2. Morfologia microscopică a dermului

Dermul prezintă două componente: *dermul papilar sau superficial*, situat imediat sub membrana bazală și reprezentând aproximativ 1/5 din grosimea totală a dermului; și *dermul*

profund, denumit și dermul propriu-zis sau dermul reticular care cuprinde 4/5 din grosimea totală a dermului.

1.2.3. Morfologia microscopică a hipodermului

Hipodermul reprezintă țesutul fibro-grăsos subdermic specializat în sinteza și depozitarea intracelulară a grăsimilor, cu rol de protecție mecanică și termică pentru organism, și în același timp un suport pentru formațiunile glandulare, foliculare, vasculare și nervoase.

1.3. Anexele pielii

Anexele organului cutanat sunt reprezentate de glandele sudoripare, glandele sebacee, părul și unghiile.

1.4. Vascularizația tegumentului

Pielea este un organ cu vascularizație de tip terminal. Epidermul nu conține vase de sânge, sistemul vascular fiind situat la nivelul dermului și constituit din două plexuri. La granița dermohipodermică se află *plexul vascular profund* din care se desprind vertical vasele comunicante care ajung în *plexul vascular superficial* situat în dermul papilar.

1.5. Inervația pielii

Este asigurată de ramurile cutanate ale nervilor periferici care conțin atât fascicule somatosenzitive cât și fascicule ce aparțin sistemului neurovegetativ, ce se dispun în plexuri: *profund* situat la granița dermo-hipodermică, *superficial* la nivelul dermului papilar, altul alcătuit din fibre amielinice situat la nivelul joncțiunii dermo-epidermice și, în profunzime, *plexul hipodermic*.

1.6. Funcțiile pielii

Prin legăturile funcționale pe care le are cu țesuturile și organele interne și prin componentele care intră în structura ei complexă, pielea îndeplinește funcții importante de: *înveliș protector, apărare, neutralizare a substanțelor chimice nocive, excreție, reglare a temperaturii corpului, sensibilitate* (conține receptori pentru *durere, presiune, termoreceptorii* (corpusulii Krause), *receptorii la întindere* (corpusulii Ruffini), *receptorii tactili* (corpusulii Meissner și celulele Merkel), *funcția imunologică*, este un *rezervor de celule embrionare, funcție de comunicare*.

1.7. Ontogenia a organului cutanat

Organul cutanat ia naștere de timpuriu în cursul embriogenezei, astfel: din *ectoblast sau ectoderm* se dezvoltă epidermul și anexele acestuia; din *mezoblast sau mezoderm* se dezvoltă dermul și hipodermul; din *crestele neurale sau neuroectoderm* iau naștere locul de origine melanoblastele.

CAPITOLUL II

CARCINOGENEZA CUTANATĂ

Carcinoamele cutanate nonmelanomatoase reprezintă o patologie cutanată frecvent întâlnită în practica medicală, cu largi implicații socio-economice, a cărei etiopatogenie nu a fost încă pe deplin lămurită.

2.1. Factori etiologici implicați în carcinogeneza cutanată

Prevalența pe scară largă a cancerului de piele se datorează unei varietăți de factori etiologici, ce includ predispoziția genetică, alte boli și afecțiuni, agenți cancerigeni chimici și de mediu. Expunerea naturală și artificială la radiații UV este una dintre cauzele principale.

2.1.1. Radiațiile ultraviolete (UV)

O potențială explicație privind creșterea cancerului de piele este creșterea expunerii la radiații UV, provenite atât de la soare cât și de la dispozitivele de bronzat artificial. Astăzi este bine cunoscut, și există dovezi științifice substanțiale, pentru a susține acest punct de vedere, faptul că radiațiile UV sunt un factor etiologic important în inducerea melanomului malign cutanat, a carcinomului bazocelular și a celui scuamos.

Fotochemoterapia PUVA este un tip de tratament cu radiații ultraviolete utilizate pentru boli severe ale pielii. PUVA poate induce cancer de piele prin: fotomutagenicitate, imunosupresie fotoindusă, utilizarea altor agenți imunosupresori împreună cu PUVA, și o posibilă infecție cu virusul papillomului uman (HPV).

2.1.2. Culoarea pielii

Riscul de cancer cutanat variază la persoanele cu piele foarte pigmentată și la cei cu pigmentarea redusă a pielii. Cea mai puternică dovadă pentru un risc crescut asociat cu pigmentarea redusă a fost găsită pentru melanom și cea mai slabă pentru carcinomul bazocelular. Au fost găsite, de asemenea, diferențe, în ceea ce privește riscul de a dezvolta cancer de piele și originea etnică.

2.1.3. Predispoziția la arsuri solare și abilitatea de a se bronză

Sensibilitatea pielii la expunerea solară este adesea definită ca fiind capacitatea pielii de a se bronză și de a determina arsuri solare atunci când este expusă la soare. Sensibilitatea pielii este un factor de risc independent pentru toate tipurile de cancer de piele.

2.1.4. Factori constituționali și leziuni cutanate benigne

Culoarea deschisă a părului, culoarea albastră a ochilor și efelidele au fost asociate cu un risc crescut de a dezvolta cancer de piele. Numărul de nevi pigmentari benigni este, de asemenea, asociat cu un risc crescut de melanom.

2.1.5 Riscul ereditar al tumorilor cutanate maligne

Analiză genetică a cazurilor sporadice de carcinom bazocelular a fost propulsată de identificarea de mutații în PTCH1 (cromozomul 9q22.3), considerată drept cauză a sindromului nevului bazocelular, o tulburare rară, autosomal dominantă. Acești pacienți dezvoltă carcinoame bazocelular multiple care pot să apară în copilărie.

2.1.6. Alți factori de risc

Un risc crescut de cancer cutanat a fost observat a fi legat de unele ocupații. Carcinomul scuamos este mai frecvent în rândul lucrătorilor în aer liber. Un risc crescut pentru melanom a fost constatat printre chimiști, lucrători cu substanțe chimice, ingineri, mineri, la cei care lucrează cu pesticide, și angajaților din telecomunicații. De asemenea, un risc crescut de melanom, a fost observat la piloți. Cu toate acestea, nu este clar dacă riscul este un rezultat al expunerii la radiații cosmice sau se datorează unor factori implicați în stilul de viață asociat cu ocupația.

Alți agenți cancerigeni exogeni frecvenți asociați carcinogenezei cutanate includ: fumatul, virusul papilomului uman, arsenicul, produsele chimice industriale, cum ar fi clorură de vinil, hidrocarburile aromatice policiclice, MNNG (N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina, un agent de alchilare și expunerea la benzină sau vapori de benzină.

2.2. Alterări esențiale ale fiziologiei celulare cu rol în carcinogeneză

Conform lui *Douglas Hanahan și Robert Weinberg* [1], carcinogeneza umană este un proces, care cuprinde șase alterări esențiale ale fiziologiei celulare care împreună dictează creșterea malignă:

2.2.1. Auto-suficiența semnalelor de creștere

2.2.2. Insensibilitatea la semnalele care inhibă creșterea

2.2.3. Evitarea apoptozei

2.2.4. Potențialul replicativ nelimitat

2.2.5. Angiogeneza susținută

2.2.6. Invazia țesuturilor și metastazarea

2.3. Clasificarea tumorilor cutanate

Pentru clasificarea tumorilor epidermului de suprafață s-a folosit clasificarea dată de către Organizația Mondială a Sănătății (WHO) [2].

CAPITOLUL III

CARCINOMUL BAZOCELULAR

Carcinomul bazocelular (sinonim: epiteliom bazocelular, bazaliom, carcinomul trichoblastic) este o tumoră cutanată de origine keratinocitară, cu malignitate locală, excepțional metastazantă derivând din stratul bazal (germinativ) al epidermului și anexelor sale; ea este constituită din celule asemănătoare celulelor imature ale acestor structuri, dispuse sub forma de lobuli, coloane, benzi sau cordoane, înconjurată de o stromă caracteristică.

3.1. Epidemiologie

Tumorile keratinocitare sunt o importantă problemă de sănătate publică, în ciuda ratei lor de mortalitate relativ scăzută; riscul pentru dezvoltarea de cancer de piele în SUA este acum de 1:5 și mult mai mare în Australia subtropicală. Aceste tumori însumează aproximativ 90% sau mai mult din tumorile maligne ale pielii, iar din acestea aproximativ 70% sunt carcinoame bazocelulare, a căror incidență este evaluată la 150/100.000 locuitori per an în Europa și are valori mai mari în SUA (300/100.000) și Australia (2.000/100.000). Incidența acestuia s-a dublat în ultimii 15 ani.

3.2. Patogenie

Este larg acceptată ipoteza că întreruperea căii hedgehog-patched este un eveniment-cheie în dezvoltarea carcinomului bazocelular. În plus, față de modificările genelor patch, mutațiile genei p53 sunt, de asemenea, în mod frecvent prezente [3].

3.3. Diagnostic pozitiv și diferențial

3.3.1. Diagnostic pozitiv

Este, în general, facil și se bazează pe: *datele anamnestice* (vârsta, profesia, factorii favorizanți, leziunile preexistente, evoluția îndelungată); *localizare* (de regulă pe părțile expuse la soare și cu predilecție pe cele două treimi superioare ale feței); *aspectul clinic* (evidențierea perlelor translucide tipice) și *examenul histopatologic* caracteristic.

3.3.1.1. Aspecte morfoclinice

CBC are un aspect sidefiu-perlat cu telangiectazii și poate apărea ca papule sau noduli, erodate sau ulcerate. Formele superficiale care apar ca niște plăci eritematoase asemănătoare unei dermatite. Leziunile mai pot să apară ca niște cicatrici albicioase sau pot masca un melanom, în CBC pigmentate, de care se pot deosebi prin prezența unei componente perlate.

Forme clinice

Lever descrie cinci aspecte clinice de CBC: *noduloulcerativ* (include ulcus-rodens, cel mai frecvent tip), *pigmentat*, *morfeiform* (sau fibros), *superficial* și *fibroepiteliomul*. În plus, există trei sindroame clinice, în care CBC joacă un rol important: *sindromul nevilor bazocelulari*, *nevil bazocelular linear unilateral* și *sindromul Bazex*. Din punct de vedere clinic este mai relevant să clasificăm CBC în cele cu risc scăzut de recurență (CBC noduloulcerativ, fibroepiteliom Pinkus) și cele cu risc crescut de recurență locală (superficial, infiltrativ, morfeiform).

3.3.1.2. Aspecte microscopice

CBC tind să aibă caracteristicile unui tip predominant celular bazal, cu palisadarea periferică a nucleilor celulelor lezionale, o stromă specializată și arii de retracție între epiteliu și stromă. În plus, există grade variabile de atipie citologică și activitate mitotică, modificări aproape mereu prezente în diferite grade.

Tipuri histopatologice

Din punct de vedere histologic, *Lever* [4] împarte CBC în două grupuri: *nediferențiate* (solid, superficial, pigmentat, fibros, fibroepiteliomul) și *diferențiate* (nodulo-ulcerativ, sindromul nevilor bazocelulari, nevi bazocelulari lineari unilaterali, sindromul Bazex). Cele din ultimul grup arată un ușor grad de diferențiere față de anexele cutanate. Cele două categorii nu pot fi net demarcate pentru că unele CBC nediferențiate arată diferențiere în unele zone, iar unele CBC diferențiate prezintă arii lipsite de diferențiere și nu există diferență între ele în ceea ce privește rata de creștere. În plus, paternul mixt este destul de frecvent întâlnit.

Variante rare de carcinom bazocelular

Însumează mai puțin de 10% din toate carcinoamele bazocelulare. Multe dintre ele nu au aspecte clinice distinctive, sunt întâlnite în cazuri izolate, incluzând *tipurile cu celule clare*, cu *celule 'în inel cu pecete'* [5], cu *celule granulare* și cu *celule gigante* ('monstruoase'). Au fost, de asemenea, descrise și variantele: *adamantanoidă*, *neuroendocrină* și *schwannoidă*.

3.3.1.3. Aspectul la microscopia electronică

Celulele tumorale din CBC nediferențiat, spre deosebire de celulele bazale normale ale epidermului prezintă nucleu mare, desmozomi slab dezvoltați și rare tonofilamente. În plus, în multe celule keratinizate sunt prezenți *desmozomi* bine dezvoltați, multe *fascicule de tonofilamente groase* și *aglomerări dense de material diskeratotic omogen*. Adesea este văzut un număr mic de *granule keratohialine*. Unele CBC prezintă zone de diferențiere adenoidă, în care celulele sunt grupate în jurul unor lumene asemănătoare celor glandulare. Aceste celule pot să prezinte o *îndoire pronunțată marginilor laterale ale membranei plasmatică*, așa cum se observă în mod normal în celulele ductale eccrine.

3.3.1.4. Caracteristici imunohistochimice

CBC prezintă reactivitate pentru filamentele intermediare *citokeratină (CK)*, dar nu orice variantă de CBC pur prezintă pozitivitate pentru *EMA*. CBC este rareori imunopozitiv pentru peptide endocrine asociate, inclusiv *CD56*, *sinaptofizină* și *chromogranină A*, iar reactivitatea sa aparentă pentru markeri specializați, precum *α-actina* [6], a fost folosită pentru a sprijini premisa că celulele acestei leziuni prezintă proprietățile celulelor stem epidermice. Un alt marker glicoproteic, care este prezent în cele mai multe CBC este *BerEP4*. Lectina specifică L-fucozei, *Ulex Europaeus I*, care nu are afinitate pentru CBC [90]. Membrana bazală din jurul insulelor tumorale prezintă imunocolorare pentru *colagen IV sau V*, *laminină* și *antigenul pemfigoidului bulos*. Supraexpresia *proteinei p53* este exprimată de peste 80% dintre CBC și sunt de asemenea pozitive pentru oncoproteina *Bcl-2*. CBC este rareori imunopozitiv pentru *HMB45*. *CK20*, a fost folosit pentru a diferenția CBC de unele cazuri de tricoblastom, tricoepiteliom sau fibroepiteliom [7].

3.3.2. Diagnostic diferențial

CBC are caractere citologice și arhitecturale destul de tipice, dar, în anumite situații ridică probleme de diagnostic diferențial cu: carcinomul scuamos, trichoepiteliomul (epiteliomul benign chistic multiplu Brooke), trichoepiteliomul desmoplastic, tricoblastom, keratoza actinică, tumorile sebacee, sebaceomul, carcinomul sebaceu.

3.4. Evoluție și prognostic

Recurențele CBC sunt mai frecvente în leziunile cu localizare la nivelul nasului și nasolabial. CBC sunt tumori *invazive la nivel local*, iar *metastazele* apar la mai puțin de 1:10000 de tumori [96]. Morbiditatea crește cu profunzimea *invaziei tumorale*. *Invazia perineurală* este văzută foarte rar în CBC infiltrativ primitiv de la nivelul feței. În CBC metastatic *răspândirea hematogenă și limfatică* sunt distribuite în egală măsură [8].

Riscul de apariție al *altor CBC primare* este crescut la persoanele de sex masculin, cu vârsta de peste 60 de ani și localizare la nivelul trunchiului. O altă cauză frecventă de morbiditate o reprezintă *infecțiile*.

3.5. Tratament

Tipul de terapie ales depinde de: caracteristicile tumorii (localizare, forma clinică, etapa evolutivă), vârsta bolnavului, starea medicală și preferințele acestuia, alte tratamentele aplicate anterior. Se folosesc următoarele metode terapeutice: diatermocoagularea, excizia chirurgicală, radioterapia locală de contact (Chaoul) sau mixtă (de contact și semiprofundă), chimioterapia locală, interferonul intralezional, criochirurgia, fotocauterizarea cu laser CO₂, chiuretarea, chirurgia micrografică Mohs (chemochirurgia), terapia fotodinamică, retinouizii (tigasonul).

PARTEA SPECIALĂ

CAPITOLUL IV

STUDIUL CLINIC AL CARCINOMULUI BAZOCELULAR

4.1. Material și metodă

Materialul prelucrat în prezenta teză de doctorat a fost reprezentat de 1072 piese de exereză chirurgicală și mici fragmente bioptice, prelevate de la 978 de pacienți, care au suferit intervenții chirurgicale pentru ablația acestor formațiunilor tumorale.

Datele referitoare la pacienți au fost colecționate din foile de observație aflate în arhiva Clinicilor de Dermato-venerologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova și Chirurgie Plastică și Reparatrice din același spital. Au fost selectate numai cazurile confirmate histologic în Laboratorul de Anatomie Patologică și Citologie din acest spital pe parcursul a 7 ani (2003-2009), a căror evidență se regăsește în registrele de diagnostic histopatologic.

Numărul leziunilor tumorale este mai mare decât cel al pacienților datorită faptului că unii dintre aceștia au prezentat tumori multiple, fiecare dintre ele având un diagnostic histopatologic diferit. Studiul a fost de tip retrospectiv pe material reprezentat de leziuni cutanate ce au avut diagnosticul clinic generic de neoplazie cutanată și diagnostic histopatologic ulterior de carcinom bazocelular.

Studiul clinic a avut în vedere următoarele **obiective**: stabilirea distribuției după sex, vârstă și profesie; precizarea mediului de proveniență a bolnavilor; modul de debut; stabilirea formei clinice; urmărirea evoluției CBC; aspecte particulare legate de evoluție, formă clinică și timpul scurs de la debut.

Dintre numeroasele clasificări existente, am ales să folosim clasificarea dată de Lever carcinoamelor bazocelulare, atât din punct de vedere clinic cât și histopatologic, cu mențiunea că nu toate subtipurile descrise de Lever au fost întâlnite în cazuistica studiată, câteva dintre ele fiind, așa cu el însuși a afirmat foarte rare.

Datele referitoare la parametrii clinici evaluați au fost introduse în tabele de baze de date din modulul Microsoft Access din pachetul de programe Microsoft Office 97 Professional. Prelucrarea datelor rezultate a fost efectuată cu ajutorul modulului Microsoft Excel din pachetul de programe Microsoft Office 97 Professional.

4.2. Rezultatele studiului clinic

4.2.1. Distribuția cazurilor de CBC raportată la vârsta, sexul și mediul de proveniență al pacienților

a. Distribuția pacienților pe anii de studiu și în funcție de sex este prezentată în Tabelul 1.

ANUL	NR. CAZURI	SEX	
		M	F
2003	122	53	69
2004	124	61	63
2005	144	69	75
2006	143	58	85
2007	173	67	106
2008	169	81	88
2009	197	108	89
TOTAL	1072	497	575

Tabel 1.
Repartiția cazurilor de CBC pe durata studiului

În tabelul prezentat mai sus, se observă că frecvența apariției CBC, de-a lungul anilor este neregulată și numărul cazurilor diagnosticate a crescut în ultimii ani (de la 122 în 2003, la 197 în 2009). Din 1072 de cazuri studiate, 497 (46,36%) sunt pacienți de sex masculin, iar 575 (53,64%) de sex feminin. Raportul între sexe este 1,15 în favoarea femeilor. Se observă, așadar o ușoară predominanță la sexul feminin, fără ca aceasta să fie semnificativă.

b. Distribuția pacienților cu CBC în funcție de grupa de vârstă

În studiul efectuat, s-a constatat apariția CBC între 17 ani și 94 ani, cu o prevalență între 55-73 ani (55,4%), iar media de vârstă a fost de 55,5 ani.

GRUPA DE VÂRSTĂ	NR. CAZURI
17-35 ani	14
36-54 ani	83
55-73 ani	594
74-94 ani	381
TOTAL	1072

Tabel 2.
Repartiția cazurilor de CBC pe grupe de vârstă

Repartiția pacienților cu CBC din lotul de studiu, în funcție de grupele de vârstă, arată că CBC are un maximum de frecvență la grupa de vârstă 55-73 ani, unde afectează 594 de pacienți (55,4%), urmată de grupa de vârstă 74-94 de ani (381 cazuri – 35,5%). Grupa de vârstă 36-54 de ani a înregistrat 83 de cazuri (7,7%), iar în grupa de vârstă 17-35 de ani, numărul pacienților este foarte redus (14 pacienți - 1,3%).

La grupele de vârstă 17-35 ani, 36-54 ani, 55-73 ani se observă preponderența cazurilor de carcinom bazocelular la bărbați față de femei cu diferențe mici între acestea. Grupa de vârstă 74-94 ani prezintă o preponderență a cazurilor de carcinom bazocelular la femei față de bărbați – 239 femei (62,73%) și 142 bărbați (37,27%).

Maximum de diferență între sexe este întâlnit la grupa de vârstă 55-73 ani, unde CBC a fost întâlnit la 357 bărbați (60,1%) și 237 femei (39,89%), aceasta fiind grupa la care CBC este întâlnit cel mai frecvent, în cazuistica studiată.

c. Distribuția pacienților cu CBC în funcție de mediul de proveniență

Distribuția în funcție de mediul de proveniență a arătat că din mediul urban au provenit 398 cazuri (37,13%), iar din mediul rural 674 cazuri 62.87%, o explicație posibilă fiind faptul că majoritatea pacienților din mediul rural aveau ocupații ce implicau expunerea mai intensă și de durată mai lungă a la radiațiile ultraviolete – agricultori, grădinari, mecanizatori.

4.2.2. Distribuția cazurilor de CBC raportată la aspectul leziunilor

a. Distribuția cazurilor de CBC în funcție de localizare

În urma ablației chirurgicale de la 978 pacienți au provenit 1072 tumori, deoarece unii dintre aceștia prezentau multiple leziuni tumorale cu localizări diferite. Rezultatele studiului arată că din cele 1072 cazuri de CBC, 974 cazuri (90,85%) sunt localizate la nivelul capului și gâtului, 85 cazuri (7,93%) la nivelul trunchiului și membrelor, iar în 13 cazuri (1,21%) localizarea nu a fost specificată.

Tabelul de mai jos (*Tabel 3.*) prezintă rezultatele studiului localizării CBC în funcție de cele 4 grupe de vârstă luate în considerație. Pentru fiecare grupă de vârstă situația este prezentată în raport cu sexul pacienților incluși în studiu. La grupa de vârstă cu frecvența cea mai crescută (55-73 ani) am observat că la nivelul trunchiului și membrelor CBC a predominat la bărbați (29 cazuri), situația inversându-se la grupa de vârstă următoare (74-94 ani).

GRUPA DE DE VÂRSTĂ	17-35 ani		36-54 ani		55-73 ani		74-94 ani		TOTAL
	M	F	M	F	M	F	M	F	
<i>LOCALIZARE</i>									
<i>CAP & GÂT</i>	7	5	42	34	324	216	129	217	974
<i>TRUNCHI & MEMBRE</i>	1	1	3	3	29	19	11	18	85
<i>NESPECIFICAT</i>	0	0	1	0	4	2	2	4	13
TOTAL	14		83		594		381		1072

Tabel 3.
Repartiția pacienților cu CBC în funcție de localizare, vârstă și sex

La nivelul capului s-a constatat prezența a 961 de cazuri (89,64%), iar la nivelul gâtului 13 cazuri (1,21%). Cele mai multe cazuri de CBC au fost constate la nivelul nasului (337 cazuri) și cele mai puține la nivelul regiunii occipitale (7 cazuri). 34,60% din cazurile de CBC sunt întâlnite la nivelul regiunii nazale, căreia îi urmează regiunea geniană (15,40%) și regiunea orbitală cu 11,60%. Regiunile auriculară, frontală, infraorbitală și temporală sunt zone în care frecvența de apariție prezintă variații destul de reduse, respectiv între 8,52% în regiunea auriculară și 6,06% în regiunea temporală.

b. Distribuția cazurilor de CBC în funcție de forma clinică

În *Tabelul 4* este prezentată repartiția cazurilor studiate în funcție de aspectul macroscopic și numărul cazurilor cu diagnostic clinic neconcordant cu cel histologic.

FORMA CLINICĂ	NUMĂR CAZURI
CBC nodular	524
CBC ulcerat	182
CBC pigmentat	67
CBC plan-cicatricial	59
CBC perlat	43
Epiteliomatoza feței	29
CBC chistic	23
CBC pagetoid	18
CBC superficial	13
CBC vegetant	9
CBC terebrant	7
Alt diagnostic	98
TOTAL	1072

Tabel 4.
Distribuția cazurilor de CBC în funcție de forma clinică

Am constatat că proporția cea mai mare a fost deținută de CBC nodular – 524 cazuri (48,88%), urmat de forma ulcerată – 118 cazuri (16,98%). Pe ultimele locuri se situează formele vegetantă și terebrantă (cu 9, respectiv 6 cazuri, adică, 0,86% și 0,65% din totalul cazurilor studiate).

4.3. Discuții

Woodhead et al. [9] în 1996 a raportat creșterea semnificativă a cancerelor de piele non-melanomatoase la americanii din Hawaii expuși la radiații UV de intensitate crescută. Incidența lor în Danemarca (1978-1982) a arătat o creștere exponențială cu vârsta pentru ambele sexe [10]. În Suedia, sunt diagnosticate anual aproximativ 30.000 de cazuri noi de cancer de piele, dintre care 25.000 sunt CBC, cauză ce determină moartea a 400 de pacienți/an.

Rezultatele celor 1072 tumori analizate în acest studiu, coincid cu cele din literatura națională și internațională în ce privește factorii favorizanți, creșterea incidenței în ultimii ani,

repartiția pe sexe a pacienților, medii de proveniență și pe grupe de vârstă a acestora în momentul diagnosticului. Așa cum a fost menționat mai sus, există și pacienți care au prezentat tumori multiple, dar la cei mai mulți s-a identificat o singură leziune. Aceste observații sunt similare cu cele ale lui *Kikuchi and col.* [11], care a luat în studiu 243 pacienți japonezi cu CBC și a raportat leziuni multiple numai la 4 dintre aceștia. În ciuda faptului că, majoritatea pacienților au fost de sex feminin, diferența între sexe nu a fost semnificativă, comparativ cu rezultatele obținute la alte populații (asiatici, africani, mexicani și spanioli). În literatură au mai fost descrise și alte studii în care s-a constatat apariția CBC predominant la persoanele de sex feminin, dar există și studii în care CBC a fost mai frecvent la bărbați.

Tumora este mai frecvent întâlnită la grupa de vârstă 55-72 ani, cel mai tânăr pacient având vârsta de 17 ani, iar cel mai în vârstă 94 de ani, similar cu ceea ce este raportat în alte lucrări [12]. După unii autori vârstele extreme sunt mai puțin frecvente. De asemenea, s-au constatat diferențe între bărbați și femei la fiecare grupă de vârstă, cea mai evidentă fiind între 55 și 74 de ani (357 bărbați și 237 femei); pacienții de sex masculin sunt majoritari și la grupele de vârstă 17-35 ani (8 bărbați și 6 femei) și 36-54 (46 bărbați și 37 femei), numai la grupa de vârstă 74-94 ani predomină persoanele de sex feminin (142 bărbați și 239 femei), o posibilă explicație fiind speranța de viață mai mică a bărbaților decât a femeilor, datorită mortalității crescute prin boli cardiovasculare. Au existat și studii în care nu s-au întâlnit diferențe semnificative între sexe pe diferite grupe de vârstă.

Nikpour HA [13], într-un studiu efectuat pe 287 pacienți care au suferit ablația leziunilor de CBC, a observat că acesta a afectat preponderent pacienții peste 45 ani (192 cazuri - 66,90%). Repartiția pe genuri a fost de 151 bărbați (52,61%) și 136 femei (47,39%). În ceea ce privește localizarea, CBC s-a situat în special pe cap și gât, în procent de 77,70%. În studiul de față principala localizare a tumorilor a fost la nivelul capului și gâtului (91,23%), iar la nivelul trunchiului și membrilor (7,74%). La cap ele au fost localizate în special la nivelul nasului (34,6%), al regiunii geniene (15,4%), orbitale (11,6%), auriculare (8,52%), frontale (6,57%), infraorbitale (6,47%), temporale (6,06%), parietale (3,14%), zigomatice (2,26%), mandibulare (2,05%), orale (1,64%), mentoniere (0,92%) și occipitale (0,72%). Aceste rezultate sunt similare cu cele raportate de *Grosshans* [14].

Astfel, stabilirea unor corelații între aspectul histopatologic, componenta stromală, localizarea tumorii, datele clinice despre pacienți și evoluția lor ulterioară ar trebui să conducă la identificarea unor elemente noi cu rol prognostic pentru CBC și implicit la scăderea numărului de recidive.

CAPITOLUL V

STUDIUL HISTOPATOLOGIC AL CARCINOMULUI BAZOCELULAR

5.1. Material și metodă

Pentru studiul histologic am analizat atât din punct de vedere macroscopic cât și microscopic toate cele 1072 cazuri de CBC provenind de la 978 pacienți care au suferit intervenții chirurgicale pentru ablația formațiunilor tumorale în cadrul Secției de Dermatovenerologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova și Chirurgie Plastică și Reparatrice din același spital. Datele privitoare la aspectul macroscopic (aspectul, culoarea și dimensiunile) au fost extrase din foile de observație clinică precum și din registrele de anatomie patologică. Au fost selectate numai cazurile confirmate microscopic în Laboratorul de Anatomie Patologică și Citologie din acest spital. Au fost studiate microscopic aspectele epidermului și parenchimului tumoral, alterările stromale și gradul de extensie tumorală. La un mare număr de cazuri s-au efectuat secțiuni histologice multiple pentru formarea unei imagini asupra tumorii în întregime. Secțiunile seriate sunt importante pentru descoperirea carcinoamelor mixte și pentru studierea structurilor peritumorale, per Studiul histopatologic a urmărit analiza parametrilor de evaluare morfologici ai tumorilor studiate, parametrii care au fost reprezentați de: *parametrii de evaluare macroscopică* (dimensiunea tumorii și aspectul macroscopic) și *parametrii de evaluare microscopică* (tipul histopatologic, modificările morfologice la nivelul stromei tumorale, modificările morfologice la nivelul elementelor epiteliale și aspectul microscopic al marginilor tumorale și relația acestora cu țesutul sănătos adiacent).

Realizarea iconografiei

Pentru analiza microscopică a acestor parametrii am utilizat microscopul Nikon Eclipse E800, folosindu-se ocularul cu grosiment de 4 și obiective corectate optic planapocromate cu grosimente de X2,5, X4, X10, X20 și X65. Cele mai semnificative imagini au fost preluate cu ajutorul unei camere video-digitale Nikon DN 100 și achiziționate direct în calculator cu ajutorul programului LUCIA NET versiunea 1.16.5. Prelucrarea imaginilor microscopice a fost efectuată cu ajutorul modulului "Contrast Enhancement" din programul de analiză a imaginii Olympus Micro Image 3.0 - 32 bit.

Au fost examinate secțiuni fine (5 micrometri), unele fiind colorate prin mai multe metode: metoda uzuală cu Hematoxilină-Eozină; metoda tricromică Masson, PAS și orceină, altele fiind prelucrate prin metoda imunohistochimică clasică pentru punerea în evidență a unor antigene specifice celulelor tumorale proliferate.

Dintre cazurile descrise în literatura de specialitate, în studiul nostru, am întâlnit următoarele tipuri histopatologice de CBC:

TIPUL HISTOPATOLOGIC	NR. CAZURI
solid	471
adenoid	213
keratinizat	97
pigmentat	89
metatipic	73
superficial	56
chistic	32
infiltrativ	23
sclerodermiform	18
TOTAL	1072

Tabel 5.
Repartiția CBC studiate în funcție de subtipul histopatologic

Așa cum reiese și din graficul de mai jos, cel mai frecvent întâlnit a fost CBC solid – 471 cazuri (43,94%), urmat de CBC adenoid – 213 cazuri (19,87%), iar CBC sclerodermiform a avut frecvența cea mai redusă - 18 cazuri (1,68%). CBC keratinizat și pigmentat au avut o frecvență apropiată – 97, respectiv 89 de cazuri (9,05%, respectiv 8,39%), la fel și CBC metatipic și superficial, ca și cel infiltrativ și sclerodermiform care au fost cele mai rare.

De menționat este faptul că oricare dintre tipurile histopatologice descrise pot să prezinte un **grad de invazie**, cu excepția CBC superficial. În studiul de față au prezentat invazie 66/1072 cazuri, adică 5,83% din totalitatea leziunilor tumorale analizate. Dintre subtipurile histopatologice incluse în studiul de față cel mai frecvent au prezentat invazie CBC infiltrativ: 19/23 cazuri – 82,60%, urmat de CBC sclerodermiform: 11/18 cazuri – 61,11%, CBC solid: 13/471 cazuri – 2,76%, CBC adenoid: 3/213 cazuri – 1,40%, CBC metatipic: 8/73 cazuri – 1,09%, CBC keratinizat: 9/97 cazuri – 0,93%, CBC chistic: 1/32 cazuri – 0,31%, iar cel mai rar CBC pigmentat: 2/89 cazuri – 0,22%.

TIPUL HISTOPATOLOGIC	CBC INVAZIV
solid	13
adenoid	3
keratinizat	9
pigmentat	2
metatipic	8
superficial	-
chistic	1
infiltrativ	19
sclerodermiform	11
TOTAL	66

Tabel 6.
Repartiția CBC invazive în funcție de subtipul histopatologic

Gradul invaziei în profunzime a însemnat invazia dermului, a anexelor cutanate, hipodermului, fibrelor musculare striate, țesutului adipos, țesutului cartilagos și invazia perineurală, după cum se poate remarca în tabelul de mai jos.

GRADUL DE INVAZIE	NR. CAZURI
invazia dermului	4
invazia anexelor cutanate	3
invazia hipodermului	31
invazia fibrelor musculare striate	17
invazia țesutului adipos	4
invazia țesutului cartilagos	5
invazia perineurală	2
TOTAL	66

Tabel 7.
Repartiția CBC invazive în funcție de gradul de invazie

Distribuția CBC invazive în funcție de gradul de invazie, prezentată în graficul de mai jos, arată că cele mai multe CBC invazive au invadat în profunzime până la nivelul hipodermului (31/66 cazuri, adică 46, 97%), urmate de cele care au invadat până la nivelul fibrelor musculare striate (17/66 cazuri, adică 25,76%) și numai 6,06% (4/66 cazuri) au invadat numai până în derm. Din cele 1072 cazuri de BCC, doar 37 au fost recidive (3, 41%), iar la 93 cazuri (8,68%) diagnosticul la internare a fost neconcordant cu diagnosticul histologic.

În cele ce urmează, sunt prezentate subtipurile histopatologice incluse în studiul efectuat, prin analiza celor 1072 leziuni tumorale ce au provenit de la cei 978 pacienți pe colorațiile standard hematoxilină-eozină, tricromică Masson, Van Gieson și colorațiile speciale: PAS și orceină.

5.2.1. Carcinomul bazocelular solid a fost întâlnit la 471/1072 cazuri, adică la 43,94% din tumorile studiate. Dintre acestea, 13 cazuri au fost invazive. Histopatologic, acest subtip a prezentat un strat celular extern la nivelul căruia celulele erau aranjate în palisadă, adică perpendicular pe membrana bazală și cu axele longitudinale orientate paralel, spre deosebire de celulele din interior, care erau dispuse dezordonat.

Din cele 471 de CBC solide studiate, 237 au fost forme pur solide, restul de 234 cazuri au avut întinse zone adenoide – 113 cazuri, zone cu keratinizare – 72 cazuri, zone chistice – 23 cazuri, zone cu pigmentare - 15 cazuri, iar zone sclerodermiforme - 11 cazuri.

De asemenea, am constatat că 323 de cazuri au prezentat ulcerarea la nivelul epidermului supraiacent, la restul cazurilor acesta fiind atrofice. Infiltratul inflamator care însoțea ulcerarea a fost localizat atât tumoral cât și peritumoral, în marea majoritate a cazurilor fiind abundent, de natură limfoplasmocitară.

5.2.2. Carcinomul bazocelular adenoid (pseudoglandular) a ocupat locul al doilea ca frecvență în studiul nostru, fiind observat la 213/1072 cazuri, adică la 19,87% din totalitatea leziunilor studiate. Histologic a fost constituit din formațiuni ale căror celule erau dispuse în cordoane subțiri ramificate și anastomozate, alcătuite din 1-2 rânduri de celule, realizând un aspect dantelat.

Dintre CBC adenoide întâlnite în studiul efectuat 159 au fost pur adenoide, restul prezentând zone de diferențiere diverse: chistice, cu keratinizare, solide, cu pigmentare sau sclerodermiforme. Epidermul supraiacent a fost ulcerat în 67 de cazuri. Numai 3 cazuri din cele 213 au prezentat invazie la nivelul hipodermului.

5.2.3. Carcinomul bazocelular keratinizat a reprezentat 9,05% din totalitatea cazurilor studiate. Microscopic s-a constatat existența, în centrul unora dintre insulele tumorale, de chisturi cornoase tipice constituite din celule keratinizate anucleate. Au existat și cazuri în care keratinizarea s-a prezentat sub formă de celule parakeratozice, ce au nucleii alungiți și citoplasmă ușor eozinofilă. Unele cazuri au prezentat ulcerația epidermului, iar 9 cazuri au invadat structuri subiacente. Procesul de keratinizare s-a instalat mai frecvent la subtipurile solid și superficial, la celelalte subtipuri fiind întâlnit cu o frecvență mult mai redusă.

5.2.4. Carcinomul bazocelular pigmentat a fost întâlnit în procent de 8,39% din numărul leziunilor incluse în studiu, adică în 89 cazuri, deși multe dintre carcinoamele bazocelulare studiate au prezentat în masa tumorală mici cantități de pigment melanic.

Din punct de vedere histopatologic, au fost incluse în această categorie cazuri care au prezentat incluzii de pigment melanic atât în celulele neoplazice, cât și în melanofagele din stroma tumorală. În studiul de față am constatat că cel mai frecvent prezintă pigmentare tipurile superficial, adenoid, chistic și, mai rar solid.

Am constatat că numărul cazurilor care au invadat țesuturile subiacente este redus – numai 2 cazuri din cele 89 luate în studiu, dar la multe dintre ele prezența melaninei a declanșat o reacție inflamatorie gigantocelulară de intensitate variată.

5.2.5. Carcinomul metatipic (bazoscuamos) a prezentat o frecvență de 6,81%, adică a fost observat în 73 cazuri, dintre care 8 cazuri au fost invazive. Histopatologic, acest subtip a avut caracteristici care au provenit atât de la carcinomul bazocelular tipic, cât și de la carcinomul spinocelular. El s-a prezentat sub formă de proliferări tumorale bazocelulare și insule tumorale spinocelulare, pe alocuri cu keratinizare.

Componenta scuamoasă a carcinomului spinocelular a fost bine diferențiată în 37 cazuri, moderat diferențiată în 29 și slab diferențiată în 7 cazuri. Au existat de asemenea și

cazuri care au recidivat în mod repetat, și la care aspectul microscopic inițial de carcinom bazocelular a fost înlocuit de carcinom metatipic.

5.2.6. Carcinomul bazocelular superficial a fost întâlnit în 5,22% din cazurile studiate (56/1072). Este subtipul histopatologic în care proliferările tumorale rămân în epiderm, sau invadează dermul superficial.

Microscopic s-a caracterizat prin prezența de muguri epiteliomatoși mici și proliferări neregulate de țesut tumoral, care atârnă de epiderm ca niște ”picături de apă”, dar și similar unui CBC nodular având aspectul unei insule tumorale conectate în mai multe puncte. Aceste proliferări se întindeau mult în suprafață în unele cazuri.

5.2.7. Carcinomul bazocelular chistic a fost constatat la 32 din cazuri (2,99%) și a fost subtipul la care gradul de invazie a fost cel mai redus – 0,31% (1 caz).

Histopatologic, el a păstrat în general, arhitectonica carcinomului bazocelular solid, însă, unele mase tumorale au conținut cavități umplute cu material necrotic, rezultat al dezintegrării celulelor neoplazice sau al degenerescenței stromei cuprinse în masa tumorală sau ca rezultat al unor diferențieri sebacee, fapt nedemonstrat încă, dar sugerat de aspectul vezicular al celulelor din centrul insulelor tumorale, ce aveau tendința de a se diferenția în celule sebacee.

5.2.8. Carcinomul bazocelular infiltrativ a fost întâlnit la 23 de cazuri, 2,15% din totalitatea cazurilor studiate. A fost subtipul cu gradul de invazie cel mai ridicat – 82,60%, adică 19/23 cazuri care au prezentat invazie în structurile subiacente, ajungând până la mușchi, cartilaj sau țesutul adipos, cu infiltrare perivasculară și perineurală. De multe ori nu s-a putut vorbi de un subtip histopatologic particular, ci mai degrabă de porțiuni cu caracter infiltrativ ale celorlalte subtipuri. Zonele cu caracter infiltrativ sunt reprezentate de insule sau cordoane înguste, alungite, ramificate, fiind alcătuite din puține rânduri de celule bazofile, nu de puține ori nediferențiate. Delimitarea dintre masele tumorale este imprecisă, iar stroma este mai abundentă decât în CBC nodulare.

5.2.9. Carcinomul bazocelular sclerodermiform a avut cea mai scăzută frecvență, fiind observat la numai 18/1072 cazuri (1,68%), dar 11/18 cazuri au fost invazive, adică 61,11%. Microscopic, el a fost constituit din cordoane tumorale subțiri, înguste (alcătuite din 1-2 rânduri de celule) sau grupuri de celule bazaloide, sau de cordoane celulare ramificate, înconjurate de o stromă conjunctivă densă, fibroasă. De fapt, acest aspect al stromei, evidențiat prin abundența și predominanța țesutului conjunctiv comparativ cu insulele de celule tumorale este una dintre caracteristicile sale de bază

5.3. Discuții

Tipul histologic majoritar în cazistica noastră, ca de altfel și în numeroase lucrări publicate în literatura de specialitate, a fost reprezentat de CBC solid, care a însumat mai mult de 1/3 din totalul cazurilor.

Scrivener Y et al. [15], în Franța, a observat o frecvență mai mare tot a CBC nodular, care a înregistrat un procent de 78,7%, CBC superficial – 15,1%, iar CBC morfeiform – 6,2%; formele nodulare și morfeiforme predominând la nivelul extremității cefalice (89,6%, respectiv 94,8%).

Comparația cu alte studii a arătat că, la fel ca și în alte părți ale lumii CBC nodular are frecvența cea mai mare, iar CBC sclerodermiform este cel mai rar întâlnit.

Pattern-ul lor de creștere caracteristic ne conduce la ipoteza că CBC trebuie să-și păstreze contactul cu epidermul sau foliculii piloși pentru a putea să prolifereze. *Hundeiker M et al.* [16] a studiat la 400 de cazuri de CBC legătura dintre masele tumorale și epiderm/foliculii piloși și a observat că este prezentă în mai mult de 90% dintre cazuri. Deși ideea este înalt speculativă, ea este compatibilă cu raritatea metastazelor și evidenta lipsă de autonomie a creșterii tumorale.

Patternul superficial expus a prezentat o vastă arhitectură, aranjamente de la compact, adenoid, reticulat și tricoepitelioid, cu una sau mai multe conexiuni cu epidermul. Variațiile celulare au fost grupate în cinci tipuri, ele fiind văzute într-un aranjament complex în fiecare tumoră și rar în formă pură.

CBC adenoid a prezentat formațiuni care sugerează structuri tubulare sau glandulare, iar celulele sunt aranjate în cordoane care se întrepătrund cu un pattern dantelat. Colorațiile imunohistochimice pentru diferențierea eccrină sau apocrină au fost cel mai adesea negative, iar celulele care alcătuiesc structura glandulară sau tubulară a CBC adenoid produc în general mucopolizaharide sulfatate, și nu sialomucină. Au fost descrise în literatură și cazuri de CBC cu celule clare care au secretat sialomucine nu și/sau mucopolizaharide sulfatate.

În ceea ce privește palisadarea, există concordanță cu literatura, ea fiind o caracteristică constantă a CBC. Pe de altă parte, absența sa și variația intensității întâlnite în patternul reticular (23,5%) nu au fost descrise în literatura consultată.

Spațiile de retracție parenchim-stromă au fost întotdeauna foarte mult evidențiate, părănd a corobora observațiile lui *Miller* [17]. Aceasta pare să indice faptul că, ele rezultă din alterările desmozomilor și o scădere a colagenului datorată sintezei colagenazei.

Unele tumori au prezentat mai multe celule scuamoase, indicând o diferențiere epidermoidă, care este un factor de care trebuie să ținem seama, pentru că indică un comportament agresiv și o mare tendință de invazie în profunzime.

De cele mai multe ori (31,4%), ele nu invadează mai mult de 1 mm în profunzime, în ciuda faptului că tumorile prezintă fibroplazie mai intensă, dacă penetrează mai profund țesuturile subiacente.

Infiltratul inflamator cronic este întâlnit aproape în toate CBC, dar cu precădere în tipul superficial. Acesta este concentrat la interfața tumorii cu epidermul. El poate avea o mare importanță în producerea unui mecanism eficient de rejecție a tumorii de către gazdă, știindu-se că CBC necesită păstrarea contactului cu epidermul în vederea creșterii tumorale. De fapt, infiltratele în CBC sunt compuse din limfocite T și celule care mediază imunitatea celulară, care reprezintă mecanismul major de apărare al gazdei. Deoarece în porțiunea centrală a unui CBC superficial există numai câteva focare tumorale, putem concluziona că răspunsul imun din partea gazdei poate induce regresia tumorală. Creșterea foarte lentă a CBC poate fi explicată pe de o parte printr-o reacție imună de succes din partea gazdei.

Studiul angiogenezei tumorale a evidențiat dilatări marcate sau chiar ectazii ale capilarelor locale, care nu intrau în contact direct cu proliferările celulare neoplazice, iar pereții vasului rămâneau intacti, spre deosebire de melanomul malign unde celulele neoplazice intră în contact cu peretele vascular, îl perforază și dau naștere embolilor tumorali producători de metastaze.

Într-adevăr, dacă examinăm stroma carcinoamelor bazocelulare cu mai multă atenție, găsim un număr de aspecte care susțin inducția unei structuri specifice a stromei de către un epiteliu cu un înalt grad de imaturitate. Cele mai multe CBC au zone ale membranei bazale PAS pozitive. Aceste aspecte sunt prezente atât la CBC superficiale de pe trunchi, cât și la cele invazive ale feței. Așa cum rădăcina firului de păr antrenează și teaca rădăcinii fibroase atunci când "invadează" țesutul adipos subcutanat, tot astfel, la carcinoamele bazocelulare care ajung în profunzime se poate vedea existența unor învelișuri stromale subțiri, care rămân asociate de stromă, fiind probabil stromal-dependente.

S-au găsit corelații semnificative între subtipurile de CBC și alterările stromale și imune: CBC superficial s-a corelat cu recurența tardivă și infiltrate inflamator limfocitic moderat spre dens; subtipurile cu risc crescut s-au corelat cu recurența activă; variantele infiltrativă și morfeiformă – cu stroma fibroasă densă. Evaluând modelul teoretic de standardizare a progresiei CBC (de la superficial către nodular și micronodular, sau de la superficial spre nodular, apoi infiltrativ și în final morfeiform) s-au găsit corelații liniare semnificative cu răspunsul imun și alterările stromei tumorale. Aceste rezultate demonstrează evoluția CBC de la formele cu risc scăzut de recidivă, la cele cu risc crescut și reflectă dinamica interacțiunii continue dintre țesutul gazdă și leziunea tumorală.

CAPITOLUL VI

STUDIUL IMUNOHISTOCHEMIC AL CARCINOMULUI BAZOCELULAR

6.1. Material și metodă

Pentru analiza imunohistochimică am selectat un număr de 57 carcinoame bazocelulare incluse în blocuri de parafină, din arhiva Laboratorului de Anatomie Patologică și Citologie din Spitalul Județean de Urgență Craiova. Tumorile provin din regiunea capului și gâtului, precum și a trunchiului și a membrilor de la 54 pacienți care au suferit intervenții chirurgicale pentru ablația formațiunilor tumorale în cadrul Clinicilor de Dermato-venerologie și Chirurgie Plastică și Reparatrice din același spital. O parte din cazuri au fost analizate din punct de vedere imunohistochimic la Institutul Național de Patologie "Victor Babeș" din București.

Media de vârstă a cazurilor incluse în studiul imunohistochimic efectuat este de 55,5 ani. Subtipurile histopatologice din lotul studiat sunt prezentate în *Tabelul 8*. Unele CBC nodulare conțineau zone de degenerare chistică, depozite de melanină și zone de diferențiere adenoidă și keratozică. Din cele 57 cazuri, 8 au fost recidive. Cazurile neconcludente, la care colorarea a fost incertă, sau zona de tumoră necesară examinării a fost insuficientă, au fost eliminate.

Subtipul histopatologic	Nr. Cazuri (%)
Nodular	21 (36,84%)
Superficial	13 (22,80%)
Sclerodermiform	12 (21,05%)
Infiltrativ	11 (19,29%)

Tabel 8.
Subtipurile histopatologice de CBC din lotul studiat

Metoda de rutină folosită pentru evidențierea antigenelor tisulare a fost *tehnica indirectă tristadială ABC* (avidină-biotină complex).

6.2. Rezultate

Studiul imunohistochimic a avut ca obiectiv investigarea caracteristicilor celulelor tumorale, trăsăturile și componența stromei, precum și relația dintre acestea. Aspectele pe care le-am cercetat au avut următoarele obiective:

1. Analiza imunohistochimică a expresiei citokeratinelor cu ajutorul markerilor *Ber-EP4*, *34βE12*, *AE1/AE3* și *EMA*.

2. Analiza imunohistochimică a markerilor de proliferare prin evaluarea expresiei *PCNA*, *Ki67*, *p53* și *Bcl-2*.

3. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peritumorale și interrelația tumoră-stromă, prin evaluarea expresiei *vimentinei*, *actinei mușchiului neted* (α SMA), *colagenului IV*, *CD34*, *CD10* și *CD44*.

4. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea: *limfocitelor*: *limfocitelor T* cu ajutorul *FoxP3*, *IL 17*, *UCHL1*, *CD4* și *CD8* și a *limfocitelor B* cu ajutorul *L26*; *celulelor dendritice* cu ajutorul *S100*; *mastocitelor* cu ajutorul *CD117*.

Studiul imunohistochimic a fost efectuat pe 57 de leziuni, ce au provenit de la 54 de pacienți, toate fiind tumori ce s-au încadrat subtipurilor histopatologice de CBC neagresiv (CBC nodular și superficial) și CBC agresiv (CBC infiltrativ și sclerodermiform). Media de vârstă a pacienților luați în studiu a fost de 45 de ani. Dintre aceștia 32 au fost bărbați și 22 femei. La 39 dintre aceștia leziunile au fost localizate la nivelul capului și gâtului, iar la cei rămași CBC a fost localizat la nivelul trunchiului, membrilor sau a avut alte localizări. Au fost luate în studiu 25 de tumori neagresive și 29 tumori agresive, dar numărul subtipurilor histopatologice din cele două categorii a fost diferit de la o analiză imunohistochimică la alta. Pentru majoritatea cazurilor CBC incluse în studiul imunohistochimic au fost folosiți toți anticorpii luați în studiu. Cazurile neconcludente la care colorarea a fost incertă sau zona de tumoră necesară examinării a fost insuficientă au fost eliminate.

6.2.1. Analiza imunohistochimică a expresiei citokeratinelor

Expresia citokeratinelor a fost studiată pe un număr de 51 de cazuri de CBC (subtipurile nodular, superficial, infiltrativ și sclerodermiform), fiind determinată cu ajutorul anticorpilor policlonali Ber-EP4 (17 cazuri), 34 β E12 (21 cazuri), AE1/AE3 (13 cazuri) și EMA (32 cazuri). În majoritatea situațiilor s-au folosit câte doi sau trei anticorpi diferiți pentru același caz.

Pozitivitatea la **BerEP4** a fost testată pe 17 cazuri de CBC. Cinci cazuri au fost intens pozitive (29,41%), 7 cazuri moderat pozitive (41,17%), 4 cazuri slab pozitive (23,59%) și un caz a fost negativ (5,88%). Epidermul supraiacent tumorii a înregistrat o reacție negativă la Ber-EP4.

Expresia **CK 1, 5, 10 și 14** în CBC a fost testată cu ajutorul unui cocktail de anticorpi la aceste citokeratine, și anume **34BetaE12**. Din cele 21 cazuri studiate, 11 au fost intens pozitive (52,38%), 6 cazuri au fost moderat pozitive (28,57%) iar 4 cazuri au fost negative (19,04%). Deși sensibilitatea 34BetaE12 este mai mare decât a BerEP4, totuși specificitatea pentru diagnosticarea CBC este redusă, deoarece și alte tumori cutanate cu origine epidermică sunt pozitive la acest marker (de exemplu tricoepiteliomul, keratoza seboreică și carcinomul scuamos).

Pozitivitatea la AE1/AE3 a fost testată pe 13 cazuri de CBC, dintre care 6 cazuri (46,15%) au prezentat pozitivitate accentuată, 5 cazuri (38,46%) au fost moderat pozitive și 1 caz (7,69%) a fost slab pozitiv. În cazurile puternic și moderat pozitive imunocolorarea a fost difuză, iar în cazul slab pozitiv a fost focală.

Pozitivitatea la EMA a fost studiată pe 32 de cazuri de CBC, câte 8 cazuri din fiecare subtip histopatologic inclus în studiu. Numai la 2/32 cazuri de s-a constatat prezența unui imunomarcaj pozitiv. Aceste cazuri, care au aparținut grupei de CBC agresive (unul a fost de tip sclerodermiform, iar celălalt infiltrativ), cu numeroase mitoze, iar cel infiltrativ a prezentat zone de invazie în glandele sebacee, la nivelul cărora imunocolorarea a fost mai intensă.

6.2.2. Analiza factorilor de agresivitate prin evaluarea expresiei PCNA, Ki67, p53 și Bcl-2.

Deși toate tipurile de CBC au câteva aspecte histopatologice comune, există și trăsături considerate definitorii pentru fiecare variantă. În studiul de față au fost incluse 41 cazuri de CBC. Colorațiile imunohistochemice pentru caracterizarea proliferării celulare au fost efectuate pentru PCNA, p53, Ki67 și Bcl-2, iar subtipurile histopatologice incluse în studiu, clasificate după pattern-ul histologic predominant au fost: CBC superficial (8 cazuri), nodular (13 cazuri), infiltrativ (9 cazuri) și sclerozant (11 cazuri).

6.2.2.1. Analiza factorilor de agresivitate în CBC superficial

Cinci din cele opt cazuri de *CBC superficial* au prezentat colorație nucleară cu p53. Patru din cele cinci cazuri de CBC superficial pozitive la p53 (80%), au prezentat o colorație mai accentuată pentru Ki-67 decât pentru PCNA. În cazurile rămase de CBC superficial, colorațiile pentru Ki-67 și PCNA au fost aproximativ echivalente.

6.2.2.2. Analiza factorilor de agresivitate în CBC nodular

CBC nodular a prezentat o colorație de intensitate moderată la p53, PCNA și Ki-67. Procentul celulelor pozitive la PCNA a fost la mare decât la Ki-67; cu toate acestea, procentul celulelor tumorale pozitive a fost întotdeauna mai mic de 10%. Câteva arii de accentuare periferică au fost văzute la p53 și PCNA în majoritatea CBC nodulare. CBC superficiale și nodulare sunt tumori indolente, cu creștere redusă și cu afinitate intensă pentru Bcl-2.

6.2.2.3. Analiza factorilor de agresivitate în CBC sclerodermiform

CBC sclerozant a fost mai intens colorat atât pentru p53 cât și pentru PCNA. În CBC sclerodermiform s-a constatat o accentuare periferică atât pentru p53 cât și pentru PCNA în majoritatea tumorilor. În CBC sclerodermiform PCNA a fost mai intens exprimat decât Ki-67. CBC sclerozante sunt tumori agresive, infiltrative, desmoplazice cu expresie scăzută a proteinei reglatoare Bcl-2.

6.2.2.4. Analiza factorilor de agresivitate în CBC infiltrativ

CBC infiltrativ, la fel ca și CBC sclerozant a fost mai intens colorat atât pentru p53 cât și pentru PCNA, decât subtipurile neagresive, iar PCNA a fost mai intens exprimat decât Ki-67. Pozitivitatea pentru Bcl-2 a fost și în acest caz scăzută, în comparație cu CBC nodular și superficial. Pe lângă toate acestea, în subtipul sclerodermiform și infiltrativ, colorația a fost mai intensă și mai mulți nuclei din tumoră au prezentat reacție pozitivă la p53, decât în cazul CBC nodular și superficial.

Colorația a fost mai intensă pentru PCNA, decât pentru Ki-67 în subtipurile sclerozant, infiltrativ și nodular. În CBC sclerozant și nodular a existat și o accentuare periferică a P53 și PCNA în majoritatea tumorilor. CBC superficial a prezentat o variabilitate mai mare a colorației decât celelalte tipuri de CBC studiate. În plus, în câteva cazuri de CBC superficial, colorația a fost mai intensă pentru Ki-67 decât pentru PCNA.

6.2.3. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peritumorale și a interrelației tumoră-stromă

Acest studiu a presupus evaluarea răspunsului imun a celulelor stromale și tumorale în urma imunocolorării cu vimentină, α actina mușchiului neted (α SMA), colagen IV, CD34, CD105 și CD44. Toți aceștia sunt de fapt, anticopi utilizați în mod curent pentru controlul multiplicării și diferențierii elementelor mezenchimale.

6.2.3.1. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei vimentinei

Imunoreactivitatea la vimentină a fost întâlnită în toate cele patru tipuri de CBC studiate și a fost mai puternic exprimată decât pozitivitatea la anticorpi anti-keratină. Celulele pozitive la vimentină au fost distribuite aleatoriu, și deci imposibil de diferențiat de omologii lor nonreactivi. Așa cum a fost observat și în alte tipuri de tumori pozitivitatea la vimentină crește odată cu creșterea gradului de agresivitate tumorală. Deși a fost prezentă la toate cele 57 de leziuni luate în studiu, vimentina a fost mai puternic exprimată în formele agresive de CBC (sclerodermiforme și infiltrative).

6.2.3.2. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei α actinei mușchiului neted (α SMA)

Am evaluat distribuția pozitivității α actinei mușchiului neted atât în celulele tumorale cât și în stroma peritumorală. Cazurile neconcludente au fost eliminate din studiu. Din totalul de 57 cazuri luate în studiu, actina a fost pozitivă în 47 de cazuri (82,45%) *la nivelul tumorii*, cu distribuție în *celule izolate* (7 cazuri, scor de intensitate +1), *zonal* (23 cazuri, scor de intensitate +2) sau *difuz în întreaga masă tumorală* (17 cazuri, scor de intensitate +3).

Subtipurile CBC mai agresive, infiltrativ și morfeiform au prezentat pozitivitate zonală sau difuză la α actina mușchiului neted.

Pozitivitatea *la nivelul stromei* a fost observată în citoplasma unor celule fuziforme, cu nucleu ovalari, situați central, asemănătoare morfologic miofibroblastelor, în 21 cazuri (36,84%), indicând posibilitatea inducției de transformări stromale miofibroblastice în țesuturile învecinate, de către citokinele secretate de celulele epitelioatoase.

6.2.3.3. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei colagenului IV

În 20/23 cazuri (86,96%), pozitivitatea s-a înregistrat la nivelul *vaselor sangvine*, urmată de *membrana bazală a epidermului* (14 cazuri), cea din jurul *agregatelor tumorale* (5 cazuri) și la nivelul *ductelor glandulare* (7 cazuri). La nivelul vaselor, expresia colagenului IV a fost continuă, însă la nivelul membranei bazale epidermice și peritumorale a fost discontinuă. La nivelul epidermului, lipsa de continuitate a membranei bazale denotă întreruperea acesteia de către leziunea tumorală în procesul de invazie tumorală.

La nivel peritumoral, întreruperile membranei bazale (în cele cinci cazuri), dar mai ales absența pozitivării colagenului IV în restul de 18 cazuri pot reflecta o alterare a interacțiunii dintre epiteliul neoplazic și stroma conjunctivă, și sugerează un caracter mai agresiv al acelor variante de CBC. Membrana bazală din jurul insulelor tumorale a fost observată la 3 cazuri de CBC nodular și un caz de CBC superficial. Cele 14 cazuri unde a fost remarcată pozitivitate a membranei bazale epidermice la colagen IV au fost reprezentate de 9 cazuri de CBC nodular, 3 cazuri de CBC superficial, 2 cazuri de CBC sclerodermiform.

6.2.3.4. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei CD34

Au fost analizate toate cele 57 de CBC incluse în studiu și s-a observat că au prezentat pozitivitate la CD34: 2/13 (15,38%) dintre cazurile de CBC superficial, 5/21 (23,08%) dintre cazurile de CBC nodular, 7/12 (58,34%) dintre cazurile de CBC sclerodermiform și 8/11 (72,72%) dintre cazurile de CBC infiltrativ.

6.2.3.5. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei CD105

Au fost analizate din punct de vedere imunohistochimic numai cazurile pozitive la CD34, respectiv: 2 cazuri de CBC superficial, 5 cazuri de CBC nodular, 7 cazuri de CBC sclerodermiform și 8 cazuri de CBC infiltrativ. Toate cazurile studiate au fost pozitive și la CD105, cu deosebirea că, prin folosirea CD105 au fost recunoscute mai puține vase decât cu CD34. Nu am remarcat corelații semnificative între densitatea vasculară, evidențiată prin

CD34 sau CD105 și vârsta sau sexul pacientului, dar subtipurile histopatologice agresive au fost mai bine reprezentate.

De asemenea, în 6 cazuri (27,27%) dintre cazurile studiate a fost constată o pozitivitate a celulelor tumorale și stromale la CD105. Celulele tumorale imunopozitive la CD105 au fost localizate fie în centrul insulelor tumorale, fie la periferia acestora. Acestea au fost reprezentate de subtipuri histopatologice agresive, respectiv: 3 cazuri de CBC sclerodemiform și tot 3 cazuri de CBC infiltrativ.

6.2.3.6. Analiza imunohistochimică a elementelor stromale peri- și intratumorale prin evaluarea expresiei CD44

Studiul răspunsului imun la CD44 a fost realizat pe 18 cazuri de CBC: 4 cazuri de CBC superficial, 5 cazuri de CBC nodular, 6 cazuri de CBC sclerodemiform și 3 cazuri de CBC infiltrativ. Pozitivitatea la CD44 fost relativ slabă în toate formele de CBC studiate și a fost prezentă atât la nivelul celulelor tumorale cât și al celor stromale. Celulele tumorale de la nivelul cordoanelor și insulelor mici aflate la periferia tumorii au prezentat un răspuns imun mai puternic decât cele de la nivelul insulelor tumorale centrale.

6.2.4. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator

Carcinoamele bazocelulare, similar altor neoplasme, se însoțesc de prezența unui infiltrat inflamator, dovada reacției de apărare a organismului. Un rol deosebit în răspunsul imun al gazdei îl au limfocitele, mastocitele și celulele dendritice, ale căror implicații și acțiuni au fost studiate în acest capitol.

6.2.4.1. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul FoxP3, IL 17, UCHL1, CD4 și CD8.

Am studiat expresia limfocitelor T pe un număr de 32 de cazuri de CBC, câte 8 cazuri din fiecare subtip inclus în studiu, folosind anticorpi anti-: FoxP3, IL 17, UCHL1, CD4 și CD8.

6.2.4.1.1. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul FoxP3

FoxP3 (forkhead box P3) este un membru al familiei de proteine Fox care acționează ca un reglator în dezvoltarea și funcția celulelor T reglatoare. Pozitivitatea la anticorpul anti FoxP3 a fost studiată la 32 de cazuri de CBC (câte 8 cazuri din fiecare subtip histopatologic inclus în studiul imunohistochimic). A fost observată o creștere progresivă, semnificativă a numărului de celule T în dermul juxtatumoral comparativ cu cel papilar normal la 23/32 (71,86%) din cazurile studiate. Cazurile negative au aparținut grupului de CBC neagresive (nodular și superficial). Celule T FoxP3+ au fost observate atât în pseudocapsula stromală ce înconjoară insulele tumorale, cât și în nodulii tumorali.

FoxP3 a fost exprimată nu numai în celulele T reglatoare, ci și în celulele tumorale ale CBC studiate, acestea fiind FoxP3+ în 18/32 cazuri (56,35%) din cazuri. Pozitivitatea la acest anticorp a fost evident mai puternică în CBC agresive față de cele neagresive.

6.2.4.1.2. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul IL 17

Pozitivitatea la IL17 a fost studiată la aceleași 32 de cazuri de CBC (câte 8 cazuri din fiecare subtip histopatologic inclus în studiul imunohistochimic) la care a fost studiat și răspunsul imun la FoxP3. A fost observată o creștere progresivă, semnificativă a numărului de celule T în dermul juxtatumoral comparativ cu cel normal la 25/32 (78,12%) din cazurile studiate. Cazurile negative au aparținut grupului de CBC neagresive (nodular și superficial). Am constatat că IL17 a fost semnificativ corelat cu Foxp3.

6.2.4.1.3. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul UCHL1

Evaluarea pozitivității limfocitelor T la markerul UCHL1 s-a realizat pe 32 cazuri de CBC, trei dintre acestea fiind neconcludente. Infiltratul inflamator a avut o dispoziție variată, constatându-se existența a 3 pattern-uri: difuz (limfocitele sunt dispuse în bandă la joncțiunea tumoră-stromă), focal (limfocitele sunt dispuse grupat) sau nodular (limfocitele sunt dispuse sub formă de noduli cu tendință la formare de foliculi limfoizi). Cele 29 de cazuri pozitive la UCHL1 (CD45RO) au prezentat o dispoziție predominant difuză, dar și focală a imunomarcajului pentru limfocite T. Nu am întâlnit nici un caz de distribuție nodulară. La cazurile agresive, ulcerate sau invazive infiltratul inflamator a fost abundent, și evident pozitivitatea la CD45RO mai accentuată.

6.2.4.1.4. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul CD4

Pozitivitatea limfocitelor Th la CD4 a fost în majoritatea cazurilor redusă, ceea ce denotă o prezență mai scăzută a acestor celule în cadrul infiltratului inflamator limfocitic. Scorurile de intensitate au fost moderate (9 cazuri) și slabe (13 cazuri), chiar negative (10 cazuri). Nu am înregistrat niciun caz intens pozitiv.

Modul de distribuție al celulelor pozitive în infiltratul inflamator a fost predominant difuz, ele fiind localizate în principal la nivelul frontului de invazie în toate cazurile, existând uneori tendința acestora de a pătrunde în insulele de celule tumorale.

6.2.4.1.5. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor T cu ajutorul CD8

Situația limfocitelor Tc este total diferită de a Th. Astfel, din cele 32 cazuri studiate, majoritatea au fost pozitive la CD8. Am înregistrat un scor intens pozitiv în 8 cazuri (25%), un

scor moderat pozitiv în 11 cazuri (34,37%) și un scor slab pozitiv în 12 cazuri (37,5%). Un caz au fost negativ (3,12%).

Distribuția celulelor imunocompetente este marcat neregulată. Celulele CD8 pozitive au fost prezente nu numai în dermul juxtatumoral, ci și în contact direct cu marginile tumorale formând o "pseudocapsulă" în jurul CBC. În unele cazuri, în special agresive, limfocitele CD8+ au avut tendința de a pătrunde în insulele de celule tumorale.

6.2.4.2. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea limfocitelor B cu ajutorul L26

Evaluarea imunohistochimică a limfocitelor B s-a realizat pe un număr de 32 cazuri, dintre care 27 au fost concludente, iar dintre acestea numai 19 au fost pozitive. În 7 cazuri din cele 19 pozitive dispoziția a avut un caracter nodular, iar în restul de 12 a fost dispersată, difuză. Reacția la L26 a avut preponderent o intensitate moderată (4 cazuri) și redusă (13 cazuri) și doar 4 cazuri intens pozitive.

6.2.4.3. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea celulelor dendritice cu ajutorul S100

Evaluarea celulelor dendritice din EBC s-a realizat pe un număr de 27 cazuri concludente. Am observat că acestea s-au situat atât în dermul juxtatumoral, dar mai ales în imediata apropiere a celulelor epitelioatose, penetrând frecvent chiar masele tumorale.

Distribuția celulelor dendritice în EBC a fost investigată cu ajutorul markerului S100. Intensitatea reacției a fost slab pozitivă în 11 cazuri (40,74%) și moderat pozitivă în 8 cazuri (29,62%). Cinci cazuri au fost negative la S100 și trei cazuri a fost intens pozitive.

6.2.4.3. Analiza imunohistochimică a infiltratului inflamator prin evaluarea mastocitelor cu ajutorul CD117

Investigarea mastocitelor prezente în cadrul infiltratului inflamator din CBC s-a realizat pe 33 cazuri concludente, cu ajutorul markerului imunohistochimic CD117. Acest marker identifică și melanocitele și celulele Cajal însă cea mai intensă reacție la CD117 o dau mastocitele. Am remarcat prezența lor în toată stroma tumorală, atât la periferia insulelor neoplazice, cât și între acestea. În unele cazuri mastocitele s-au situat în imediata vecinătate a celulelor epitelioatose, penetrând chiar marginea maselor tumorale.

Intensitatea reacției la CD117 a fost moderată în 13 cazuri și slabă în 16 cazuri. Trei cazuri au avut o reacție intens pozitivă, iar un caz a fost negativ. Cazurile agresive incluse în studiu (infiltrative și sclerodermiforme) au fost cele care prezentat reacție intens pozitivă și o parte din reacțiile moderat pozitive. Cazurile neagresive (superficiale și nodulare) au prezentat reacții moderat sau slab pozitive, tot din acest grup făcând parte și cazul negativ.

6.3. Discuții

În general CBC este sărac în pattern-uri ale expresiei antigenice. Pentru a studia expresia citokeratinelor au fost folosiți anticorpi anti-: AE1/AE3, BerEP4, 34βE12 și EMA. Studiul citokeratinelor a fost motivat de cunoașterea faptului că originea CBC este încă neclară. Nu s-au găsit diferențe semnificative în expresia citokeratinelor din cele patru tipuri histopatologice studiate.

Colorarea cu anticorpul AE1/AE3, unul dintre cei mai folosiți markeri imunohistochimici pentru detectarea keratinocitelor cu greutate moleculară mică și intermediară, este afectată de mascarea acestor antigene prin procesul de fixare cu formaldehidă, acestui fapt datorându-se probabil răspunsul slab pozitiv al CBC la imunocolorarea cu acest anticorp, dar utilitatea sa se regăsește în cazurile rare de răspuns slab sau negativ la ceilalți markeri specifici din CBC primar sau metastazele acestuia.

La nivelul pielii imunoreactivitatea BerEP4 a fost localizată la structurile compuse din celule epiteliale bazaloide, celulele germinale epiteliale fetale, carcinoame bazocelulare și tricoepitelioame cât și în ductele eccrine și apocrine. BerEP4 colorează epiteliul glandelor anexe, dar nu și keratinocitele.

Tellechea et al [18] au arătat că BerEP4 are aplicații diagnostice în toate malignitățile pielii și diferențiază CBC de carcinomul scuamos, astfel încât se poate considera că acesta poate servi ca un marker definitiv pentru CBC. BerEP4 este de mare ajutor în identificarea CBC rămase la limitele de rezecție ale biopsiilor sau în cazul biopsiilor cu artefacte marcate, dar și în recunoșterea CBC *in statu nascendi*.

În ceea ce privește EMA, în studiul de față am constatat prezența a 2/32 cazuri pozitive, contrar datelor din literatura de specialitate, unde lipsa răspunsului la acest anticorp este considerată un element diagnostic pentru CBC. Se pare totuși că numai variantele de CBC pur sunt negative la EMA, cu toate acestea *Deba P. Sarma et al* [19] a descris un caz de CBC cu celule clare EMA pozitiv.

În concordanță cu parametrii testului Mann-Whitney, am observat că markerii Bcl-2 și p53 prezintă o tendință puternică de a indica severitatea CBC. În contrast, Ki67 datorită comportamentului său variabil, nu poate fi considerat un marker al severității. De asemenea, nici PCNA nu a fost un bun marker al proliferării celulare.

Analiza elementelor stromale în cadrul acestui studiu a fost realizată cu ajutorul anticorpilor anti-: vimentină, αSMA, collagenIV, CD34, CD105 și CD44.

Imunoreactivitatea la vimentină a fost observată în stratul bazal al foliculilor piloși. Dacă celulele tumorale bazale analizate au avut originea în aceste structuri s-ar putea spune că imunofenotipul lor este similar cu omologii lor benigni.

În ceea ce privește răspunsul la actină, rezultatele noastre sunt asemănătoare cu cele ale lui *Law et al.* [20], care au demonstrat că actina era prezentă în 28% din cazuri în componenta nodulară a EBC pur nodulare și în 85% din cazuri în componenta nodulară a EBC nodular-infiltrative. În ceea ce privește prezența actinei în stroma peritumorală, rezultatele noastre sunt similare cu cele ale lui *Tsukamoto et al.* [21], care au găsit o pozitivitate de 36%.

O caracteristică esențială a creșterii tumorale o reprezintă angiogeneza. Acest fapt a fost postulat deja de *Rudolf Virchow* în 1863 [22], and by *Folkman* în 1971 [23]. Densitatea vasculară se corelează cu agresivitatea tumorală și prognosticul într-o varietate de tumori maligne și este de mare ajutor pentru descoperirea de noi metode terapeutice oncologice.

Scopul studiului de față a fost să evalueze dacă densitatea vasculară poate reflecta comportamentul biologic al CBC, în studiu fiind incluse 57 de cazuri de CBC grupate în agresive și neagresive. În stroma peritumorală a CBC a fost găsită o variație semnificativă a densității vasculare, aceasta indicând posibilitatea utilizării ei în eventualitatea unui diagnostic diferențial, dar în același timp izbitor de scăzută, mai ales la nivelul insulelor tumorale, ceea ce este în concordanță cu alte rezultate raportate. Densitatea peritumorală vasculară a fost atribuită agresivității locale.

Teoriile curente ale carcinogenezei încearcă să explice modul în care evoluează cancerul în ciuda ”controlului imun”. Deși nu este întotdeauna pe deplin eficient, sistemul imun este capabil să recunoască și să distrugă celulele canceroase. Celulele T, celulele dendritice și produșii lor par să fie implicați în acest răspuns antitumoral din partea organismului gazdă.

Expresia limfocitelor T a fost studiată pe un număr de 32 de cazuri de CBC, câte 8 cazuri din fiecare subtip histopatologic inclus în studiu, folosind anticorpi anti-: FoxP3, IL 17, UCHL1, CD4 și CD8. Evaluarea imunohistochimică a limfocitelor B s-a realizat pe un număr de 32 cazuri, dintre care 27 au fost concludente, iar dintre acestea numai 19 au fost pozitive folosind reacția la L26. Evaluarea celulelor dendritice din CBC s-a realizat pe un număr de 27 cazuri concludente utilizând anticorpi anti-S100. Investigarea mastocitelor prezente în cadrul infiltratului inflamator din CBC s-a realizat pe 33 cazuri concludente, cu ajutorul markerului imunohistochimic CD117.

În concluzie, imunizarea cu proteine specific activate prin calea de semnalizare hedgehog poate deține promisiunea unei opțiuni preventive pentru pacienți cu sindromul nevului bazocelular care sunt predispuși la dezvoltarea unui mare număr de CBC. Pentru acești pacienți și alții care dezvoltă multiple CBC, chiar și o reducere parțială a tumorilor ar putea să le îmbunătățească substanțial calitatea vieții.

CAPITOLUL VIII

DISCUȚII GENERALE

Carcinomul bazocelular este cea mai comună formă de cancer cutanat, însumând aproximativ 80% din tumorile maligne cutanate nonmelanomatoase. Se pare că incidența sa crește cu aproximativ 10% pe an. S-a estimat că unu din trei caucazieni născuți după 1994 dezvoltă CBC de-a lungul vieții. În SUA incidența acestuia s-a dublat în ultimii 14 ani, iar acum se estimează că apar anual aproximativ un milion de cazuri noi.

Patogeneza CBC implică liberalizarea căii de semnalizare hedgehog (Shh), ceea ce conduce la activarea factorilor de transcripție asociați gliomului (Gli), acest fapt datorându-se inactivării mutațiilor în antagonistul și receptorul hedgehog, PCTH1. Se crede că CBC își are originea în celulele pluripotente din stratul bazal al epidermului care au capacitatea de a se diferenția în foliculi piloși, glande sebacee sau sudoripare. Probabil ca o consecință a originii sale, există variație histopatologică considerabilă printre CBC, care a permis descrierea mai multor subtipuri. Cele mai frecvent întâlnite subtipuri histopatologice sunt nodular și superficial. Pe lângă acestea există și câteva variante rare, care includ carcinomul bazoscuamos, morfeiform, keratozic, cu celule granulare, adamantoid, și cu celule clare.

Factorii de risc pentru dezvoltarea CBC includ expunerea la radiații ultraviolete, alte afecțiuni ale pielii și imunosupresia. De obicei apare pe zonele de tegument expuse la soare, cel mai adesea la nivelul capului și gâtului (80%), urmat de trunchi (15%) și extremități. În literatura de specialitate sunt descrise și CBC cu localizări mai puțin obișnuite, pe lângă cele din regiunea urogenitală prezentate mai sus, *Aftab M et al.* [24], a prezentat un caz cu localizare conjunctivală.

Deși metastazează foarte rar, CBC poate fi cauza unei morbidități semnificative datorită agresivității și recurenței. Aproximativ 20% dintre ele sunt urmate de o regresie spontană. CBC metastatic este extrem de neobișnuit, cu mai puțin de 300 de cazuri raportate în literatura de specialitate și o rată de metastazare cuprinsă între 0,0028-0,5%. Criteriile de diagnostic pentru CBC metastatic au fost definite de *Lattes și Kessler* în 1951 [25], și includ următoarele condiții: leziunea primară trebuie să aibă originea în epiderm sau în pielea acoperită de păr și nu în țesut mucinos; răspândirea să se facă la distanță de locul de origine și să nu reprezinte o simplă extensie; leziunile primare și metastatice trebuie să aibă același aspect histopatologic; să nu fie prezente celule cu aspect de celule scuamose.

Aspectul clinic este destul de variabil, dar uzual leziunile sunt descrise sub formă de papule sau noduli perlați, strălucitori cu o limită de demarcație ce poate fi reprezentată de crustă, ulcerație sau sângerare.

Timpul scurs de la debut prezintă o mare variație, de la o lună la 40 de ani. Studii genetice justifică această perioadă de timp, prin replicarea ADN-ului cu prelungirea fazei de sinteză. Clinic, tumora își dublează mărimea în câțiva ani, datorită faptului că celulele tumorale proliferative active sunt în procent mic.

Astfel, stabilirea unor corelații între aspectul histopatologic, localizarea tumorii, datele clinice despre pacienți și evoluția lor ulterioară vor conduce la identificarea unor elemente noi cu rol prognostic pentru CBC și implicit la scăderea numărului de recidive.

S-au găsit corelații semnificative între subtipurile de CBC și alterările stromale și imune: CBC superficial s-a corelat cu recurența tardivă și infiltrat inflamator limfocitic moderat spre dens; subtipurile cu risc crescut s-au corelat cu recurența activă; variantele infiltrativă și morfeiformă – cu stroma fibroasă densă. Evaluând modelul teoretic de standardizare a progresiei CBC (de la superficial către nodular și micronodular, sau de la superficial spre nodular, apoi infiltrativ și în final morfeiform) s-au găsit corelații liniare semnificative cu răspunsul imun și alterările stromei tumorale. Aceste rezultate demonstrează evoluția CBC de la formele cu risc scăzut de recidivă, la cele cu risc crescut și reflectă dinamica interacțiunii continue dintre țesutul gazdă și leziunea tumorală.

Există câteva indicii referitoare la controlul asupra CBC de către sistemul imun. *Curson și Weedon*, au fost primii care au descris infiltrarea CBC de către celule ce aparțin sistemului imun cu posibile semne de regresie (disrupția arhitecturii celulelor tumorale situate în palisadă la periferia tumorii, apariția celulelor apoptotice și depozitele dermale de colagen). Pe baza acestor criterii ei au descoperit că 81 din 400 tumori examinate au evidențiat regresie anterioară sau continuă [26].

Așa cum a fost relevat recent de către *Finn și Forni*, rațiunea imunizării preventive împotriva tumorilor maligne este puternică [27]. Când administrarea vaccinului a avut loc înaintea dezvoltării cancerului, sistemul imun al gazdei nu a fost afectat de supresia indusă de tumoră, și acesta poate elimina tumorile mute clinic mult mai efectiv decât pe cele observabile macroscopic. Într-adevăr, studii recente pe animale, au arătat că vaccinurile împotriva cancerului nu numai că sunt capabile să protejeze împotriva dezvoltării tumorale, dar pot să și reducă apariția tumorilor în animalele predispușe genetic.

Există tumori care reușesc să scape răspunsului imun, aspect ce rămâne de clarificat. Dar, rejecția tumorală mediată imun este numai un aspect al distrucției tumorale specifice, care urmează o cale imunologică predefinită căreia i se alătură alte imunoterapii anticanceroase, rejecții allogrefe acute, boli autoimune și distrucțiile tisulare din timpul infecțiilor cronice patogene.

CAPITOLUL VII

CONCLUZII

1. Carcinomul bazocelular apare cu o frecvență mai mare în ultimii ani. Incidența sa este ușor crescută la femei. Grupul de vârstă care prezintă cel mai mare număr de cazuri este de la 55 la 72 ani – fapt ce ne îndreptățește să-l considerăm apanajul senescentei organului cutanat, dar este demnă de notat creșterea frecvenței apariției sale la populația tânără.
2. Din lotul studiat, care a însumat 1106 pacienți, purtători a 1072 tumori, 398 (37,13%) au provenit din mediul urban și 674 (62,87%) din mediul rural; 978 (91,23 %) cazuri au fost localizate pe zonele expuse luminii solare (cap și gât), la nivelul nasului și regiunii geniene, și mai rar la nivelul trunchiului și membrilor. Aceste date sunt menite să sublinieze interrelația causală dintre expunerea îndelungată la lumina solară și apariția carcinoamelor bazocelulare.
3. Aceste carcinoame sunt tumori cu creștere lentă în primii doi ani, iar dimensiunile lor nu depind de durata bolii. Din cele 1072 cazuri de BCC, doar 37 au fost recidive (3,41%), iar la 93 cazuri (8,68%) diagnosticul la internare a fost neconcordant cu diagnosticul histologic.
4. Analiza histopatologică a leziunilor de CBC a relevat un polimorfism extrem de variat, fiind prezente atât forme nediferențiate, precum și forme cu diferențiere. Majoritatea leziunilor însă au prezentat una sau mai multe zone de diferențiere. A predominat aspectul histologic de BCC solid (44.95%), urmat de BCC adenoid (20.91%), cel mai rar întâlnit fiind BCC sclerodermiform (1.56%).
5. În studiul de față au prezentat invazie 66/1072 cazuri, adică 5,83% din totalitatea leziunilor tumorale analizate. Dintre subtipurile histopatologice incluse în studiul de față cel mai frecvent au prezentat invazie CBC infiltrativ - 19/23 cazuri (82,60%), iar cel mai rar CBC pigmentat: 2/89 cazuri – 0,22%.
6. Cele mai multe CBC invazive au invadat în profunzime până la nivelul hipodermului (31/66 cazuri, adică 46, 97%), urmate de cele care au invadat până la nivelul fibrelor musculare striate (17/66 cazuri, adică 25,76%) și numai 6,06% (4/66 cazuri) au invadat numai până în derm.
7. Comportamentul histologic al tumorilor a fost similar indiferent de localizare sau de modul de prelevare (excizie chirurgicală sau biopsie tumorală).
8. Studiul a subliniat importanța patologiei tumorale maligne dermatologice studiate atât prin numărul mare de cazuri studiate cât și prin incidența în creștere a carcinoamelor bazocelulare.
9. Studiul imunohistochimic al citokeratinelor a confirmat originea epidermică a celulelor implicate în apariția CBC. Heterogenitatea expresiei citokeratinelor în CBC este demonstrată de variabilitatea imunofenotipică a acestora. BerEP4 rămâne un marker folositor și sigur pentru CBC fiind confirmat în toate cele 17 cazuri studiate cu excepția unuia singur, iar EMA unul dintre markerii deosebit de utili în diagnosticul diferențial cu carcinomul scuamos și bazoscuamos fiind negativ în 30/32 de cazuri luate în studiu.
10. Analiza factorilor de proliferare a evidențiat că Bcl-2 și p53 au prezentat o tendință puternică de a indica severitatea CBC, fapt ce ar putea sugera că, în cazul CBC, evoluția lentă, relativ benignă, s-ar datora mai mult unei apoptoze crescute, iar Ki67 datorită comportamentului său variabil, nu poate fi considerat un marker al severității; de asemenea, nici PCNA nu a fost un bun marker al proliferării celulare.
11. Pozitivitatea la vimentină poate fi de asemenea un indicator al originii epidermice al CBC, mai precis al celulelor stratului bazal din foliculul pilos, dar pe de altă parte, prin peptidele comune care intră în componența filamentelor intermediare, poate fi vorba de o reacție încrucișată între vimentină și keratină.

12. La nivelul celulelor tumorale pozitivitatea la α -actină în evaluarea caracterului agresiv și invaziv al CBC. α -actina a avut majoritar o distribuție în masa tumorală difuză sau zonală în cazurile agresive sau în celule izolate, mai rar zonală în cele neagresive.
13. La nivelul stromei tumorale pozitivitatea la α -actină sugerează posibilitatea existenței unei transformări stromale miofibroblastice, datorită prezenței unor celule fuziforme, cu nucleii ovalari, situați central, asemănătoare morfologic miofibroblastelor.
14. Expresia colagenului IV a fost continuă la nivelul vaselor, dar la nivelul membranei bazale epidermice și peritumorale a fost discontinuă. La nivelul epidermului, lipsa de continuitate a membranei bazale denotă întreruperea acesteia de către leziunea tumorală, în procesul de invazie tumorală, iar la nivel peritumoral reflectă o alterare a interacțiunii epiteliului neoplazic cu stroma conjunctivă și sugerează un caracter mai agresiv al acelor variante de CBC.
15. CD34, un anticorp pan-celulă endotelială, a reacționat nu numai cu vasele "nou-formate" ci și cu vasele normale care traversau țesutul tumoral, iar CD105, un anticorp mult mai specific decât precedentul a reacționat numai cu celulele endoteliale "activate"; intensitatea răspunsului la aceștia fiind de asemenea asociată cu agresivitatea tumorală.
16. Expresia CD44 a fost scăzută în toate subtipurile histopatologice studiate, acest aspect fiind considerat unul dintre factorii care blochează formarea metastazelor în CBC, iar diferențele dintre subtipurile histopatologice studiate au fost ne semnificative. Pattern-urile de creștere diferite, chiar din cadrul aceleiași tumori, localizate unele lângă altele au prezentat diferențe ale nivelului expresiei CD44. Deci, expresia CD44 nu este o caracteristică tumorală statică, ci poate fi corelată cu arhitectura tumorală și interacțiunea tumoră stromă și ne permite să apreciem gradul de invazie al leziunilor studiate.
17. Evaluarea imunohistochimică a inflamației din CBC a demonstrat existența unui bogat infiltrat celular, alcătuit din limfocite, celule dendritice și mastocite
18. Prezența expresiei FoxP3 s-a constatat atât în celulele T din infiltratul inflamator, mai puternic exprimate în CBC agresive, cât și în celulele tumorale. Aceste rezultate sunt de importanță deosebită, deoarece evidențiază implicarea Tregs în carcinogeneză și direcționează eforturile către dezvoltarea unei abordări a cancerului din prisma inhibării expresiei și/sau funcției FoxP3 de către celulele Tregs asociate tumorii.
19. În studiul de față expresia IL17 a fost corelată semnificativ cu FoxP3, ceea ce susține ipoteza că celulele proinflamatorii Th17 sunt însoțite de celulele Tregs (celulele FoxP3) – "mașinăria inhibitorie a inflamației din țesutul gazdă", pentru a menține balanța între dezvoltarea și inhibarea răspunsului imun.
20. Localizarea limfocitelor a fost variată. Ele s-au situat atât în stroma tumorală, cât și în imediata vecinătate a maselor tumorale, în unele cazuri penetrând chiar insulele neoplazice. Dispoziția lor a fost în general difuză, în toată stroma tumorală, iar în peste un sfert din cazuri pentru limfocitele T și o treime pentru limfocitele B, dispoziția a fost sub formă de foliculi.
21. Predominanța unui răspuns imun mediat celular, și în mai mică măsură umoral a fost sugerată de constatarea că infiltratul cu limfocite T, evidențiat cu ajutorul UCHL1 a fost semnificativ mai abundent decât cel cu limfocite B, marcat cu L26.
22. Între limfocitele Th/CD4+ și limfocitele Tc/CD8+ am găsit o relație de inversă proporționalitate, cu predominanța limfocitelor Tc față de limfocitele Th, ceea ce sugerează că mecanismul imun predominant în CBC este cel de tip citotoxic.
23. Rolul celulelor dendritice de a lua contact cu antigenul, pe care să îl prezinte ulterior limfocitelor explică localizarea acestora atât în stromă, cât mai ales în masele tumorale, ajungând până în centrul acestora.
24. CBC prezintă răspuns inflamator în care predomină celulele T citotoxice și celule dendritice, iar incapacitatea de a eradica complet tumora, sugerează un status dinamic, unde forțele imune stimulatorii și supresive coexistă și competiționează.

25. Populația de celule dendritice, identificate cu ajutorul S100 în lucrarea de față, nu se corelează statistic cu cea a limfocitelor B. Comparând infiltratul cu limfocite T cu proliferarea celulelor dendritice, am constatat o diferență semnificativă, fiind mai importantă urmărirea infiltratului cu limfocite T decât populația de celule dendritice.
26. Mastocitele, evidențiate cu ajutorul CD117, au prezentat o reacție imunohistochimică intensă și moderată în CBC infiltrative și sclerodermiforme, variante histologice cu risc crescut de invazie și recidivă, datorită componenței infiltrative. În schimb, pentru formele nodulare și superficiale, care sunt mai puțin agresive, am observat o reacție slab pozitivă sau negativă.
27. Densitatea mastocitelor a fost mai mare la periferia insulelor de CBC și a fost independentă de prezența unui infiltrat inflamator, aceste celule fiind un vast arsenal de mediatori, care pot să joace roluri opuse în biologia tumorală atât cu efecte de promovare cât și cu efecte inhibitorii. Expresia lor fenotipică și pattern-ul lor secretor se schimbă în funcție de mediu.
28. Studiul infiltratului inflamator își găsește utilitatea în imunizarea cu proteine specific activate prin calea de semnalizare hedgehog poate deține promisiunea unei opțiuni preventive pentru pacienți cu sindromul nevului bazocelular, predispuși la dezvoltarea unui număr mare de CBC. Pentru acești pacienți și alții care dezvoltă CBC multiple, chiar și o reducere parțială a tumorilor ar putea să le îmbunătățească substanțial calitatea vieții.
29. Creșterea incidenței cancerului cutanat non-melanomatos, și implicit a costurilor economice pentru societate, alături de îmbătrânirea populației subliniază nevoia prevenției și a tratamentelor mai puțin costisitoare.
30. Noile metode terapeutice sunt necesare datorită recurenței, tumorilor multiple, metodelor complicate de tratament, rezultatelor cosmetice și reacțiilor adverse locale. Blocarea căii de semnalizare hedgehog cu compuși GANT pare a fi o strategie promițătoare, deși nu au fost încă evaluați clinic.
31. Cu toate acestea, cel mai eficient mod de scădere a epidemiei de tumori maligne cutanate non-melanomatoase este prevenția sub diferite forme, care țintește atât reducerea expunerii la radiații ultraviolete cât și detecția timpurie.

BIBLIOGRAFIE

1. **(40) Hanahan D, Weinberg RA** – The hallmarks of cancer, *Cel* Jan 7, 100(1):57-70, 2000
2. **(39) Kossard S., Epstein E.H., Cerio Jr. R., Yu L.L., Weedon D.** - Basal cell carcinoma, *Pathology and Genetics of Tumours of the Skin, WHO clasification*, vol 6, IARC, 2005
3. **(67) Chiba M, Jimbow K.** – Expression of gamma-glutamyl transpeptidase in normal and neoplastic epithelial cells of human skin. *Br J Dermatol*;114:459, 1986
4. **(65) David E Elder, ChB Rosalie Elenitsas, Bernett L Johnson Jr., George F Murphy, Xiaowei Xu** - *Lever's Histopathology of the Skin*, Lippincott Williams & Wilkins, 2008
5. **(81) Kim YC, Vandersteen DP, Chung YJ, Myong NH.** - Signet ring cell basal cell carcinoma: a basal cell carcinoma with myoepithelial differentiation. *Am J Dermatopathol* 2001; 23: 525-529.
6. **(84) Grando SA, Schofield OM, Skubitz AP, et al.** - Nodular basal cell carcinoma in vivo vs. in vitro. Establishment of pure cell cultures, cytomorphologic characteristics, ultrastructure, immunophenotype, biosynthetic activities, and generation of antisera. *Arch Dermatol.* 1996;132:1185-1193.
7. **(92) Schirren CG, Rutten A, Kaudewitz P, Diaz C, McClain S, Burgdorf WH.** - Trichoblastoma and basal cell carcinoma are neoplasms with follicular differentiation sharing the same profile of cytokeratin intermediate filaments. *Am J Dermatopathol* 1997; 19: 341-350.

8. **(97) Von Domarus H, Stevens PJ.** - Metastatic basal cell carcinoma. Report of five cases and review of 170 cases in the literature. *J Am Acad Dermatol* 10: 1043- 1060, 1984
9. **(101) Woodhead Ad, Setlow Rb, T Anaka M.** - Environmental factors in non melanoma and melanoma skin cancer . *J. Epidemiol* 1999;9:102-14
10. **(102) Osterlind A, Hou- Jensen K, Moller Jensen O.** - Incidence of cutaneous malignant melanoma in Denmark 1978-1982. Anatomic site distribution, histologic types and comparison with non melanoma skin cancer . *Br J Cancer* 1988;58:385-91
11. **(104) Kikuchi A, Shimizu H, Nishikawa T.** - Clinical and histopathological characteristics of basal cell carcinoma in Japanese patients. *Arch. Dermatol.*, 1996;132:320-4
12. **(107) Majda Vuèiæ, Sanda Roankoviæ, Vesna Vuceliæ, Mladen Belicza and Mirna** - Non-melanoma skin cancers and precancerous skin lesions in the 1996 - 2002 period – *Acta Clin Croat* 2003; 42:157-159
13. **(110) Nikpour H. A.** - Does basal cell carcinoma arising in younger patients have a more invasive behavior than that arising in older population?, *Acta Medica Iranica*, Vol. 43, No. 1, 2005
14. **(117) Grosshans, E.** - Les epithéliomas cutanés. In:_. *Encyclopédie medico-chirurgicale. Comité Científico J. F. Bach [e outros]. Paris: Ed. Techniques, 1989:3*
15. **(132) Scrivener Y, Grosshans E, Cribier B.** - Variations of basal cell carcinoma according to gender, age, location and histopathological subtype. *Br J Dermatol.* 2002 Jul; 147(1):41-47
16. **(137) Hundeiker M, Berger H** - Zur morphogenese der basaliome. *Arch Klin Exp Dermatol* 1968, 231:161-169
17. **(139) Miller S J.** - Biology of basal cell carcinoma (part I). *J. Am.Acad. Dermatol.* Jan. 1991;24(1);1-13
18. **(80) Kagen MH, Hirsch RJ, Chu P, McCormack PC, Weinberg JM.** - Multiple infundibulocystic basal cell carcinomas in association with human immunodeficiency virus. *J Cutan Pathol* 2000;27: 316- 318.
19. **(167) Deba P. Sarma, Daniel Olson, Jennifer Olivella, Tracey Harbert, BoWang, and Stephanie Ortman** - Clear Cell Basal Cell Carcinoma – Case report, *Pathology Research International*, Volume 2011, Article ID 386921, 4 pages, doi:10.4061/2011/386921
20. **(175) Law AM, Oliveri CV, Pacheco-Quinto X, Horenstein MG.** - Actin expression in purely nodular versus nodular-infiltrative basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol.* 2003 Apr; 30(4): 232-236
21. **(83) Tsukamoto H, Hayashibe K, Mishima Y, et al.** - The altered expression of alpha-smooth muscle actin in basal cell epithelioma and its surrounding stroma, with special reference to proliferating cell nuclear antigen expression and adenoid differentiation. *Br J Dermatol.* 1994;130:189-194.
22. **(177) Balkwill F. and Mantovani A.** - Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*, vol. 357, no. 9255, pp. 539–545, 2001
23. **(178) Folkman J.** - Tumor angiogenesis: therapeutic implications, *The New England Journal of Medicine*, vol. 285, no. 21, pp. 1182–1186, 1971
24. **(123) Aftab M, Percival SPB.** - Basal cell carcinoma of the conjunctiva. *Br J Ophthalmol.* 1973;57:836-837
25. **(199) Lattes, R, Kessler, R. W.** - Metastasizing basal-cell epithelioma of the skin; report of two cases. *Cancer.* 1951;4:866-78
26. **(142) Curson Catherine, Weedon David** - Spontaneous Regression in Basal Cell Carcinomas, *Journal of Cutaneous Pathology*, [Volume 6, Issue 5](#), pages 432–437, October 1979
27. **(197) Finn OJ, Forni G** - Prophylactic cancer vaccines, *Curr Opin Immunol.* 2002 Apr;14(2):172-7