

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"VICTOR BABEȘ" DIN TIMIȘOARA
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**



TEZĂ DE ABILITARE

IMUNOHISTOCHIMIA CA METODA DIAGNOSTICĂ, PROGNOSTICĂ, CU IMPACT ÎN STRATEGIILE TERAPEUTICE ALE LEZIUNILOR MALIGNNE ȘI NON-MALIGNNE

R E Z U M A T

Conf. Univ. Dr. CEAUȘU AMALIA RALUCA

Departamentul II – Morfologie Microscopică
Disciplina de Histologie

**Timișoara
2025**

REZUMAT

Această teză include rezultatele activității academice, științifice și de cercetare care au continuat, au completat sau au adus noi valențe activității de cercetare realizate în cadrul perioadei doctorale. Susținerea tezei de doctorat, cu titlul "Profilul imunohistochimic și genic al vascularizației din metastazele hepatice asociate cancerului de colon", coordonată de DI. Prof. Dr. Marius Raica a avut loc în anul 2011 și a fost urmată de obținerea diplomei de doctor în domeniul medicină, OMECTS nr. 4387/06.06.2011. Prezenta teză a fost elaborată în acord cu recomandările din Legea învățământului superior nr. 199/04.07.2023, cu modificările și completările ulterioare și a Metodologiei privind organizarea și desfășurarea procesului de obținere a atestatului de abilitare în cadrul Universității de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara.

Teza de abilitare "Imunohistochimia ca metoda diagnostică, prognostică, cu impact în strategiile terapeutice ale leziunilor maligne și non-maligne" cuprinde patru părți: realizările științifice, academice, activitatea profesională și perspectivele academice și științifice. Teza debutează prin prezentarea succintă, după o scurtă introducere, a câtorva dintre metodele și tehnicile folosite în cadrul laboratorului de imunohistochimie al Catedrei de Histologie, cu trecerea în revistă a etapelor tehnicii de la metode manuale, semiautomate și automate pentru simple, duble imunoreacții și tehnica RNAscope și utilitatea lor diagnostică și clinică.

Al treilea capitol a vizat rolul diagnostic și prognostic al tehnicii imunohistochimice în leziunile non-maligne. Studiile noastre au demonstrat, în primul subcapitol, utilitatea imunohistochimiei, prin identificarea factorilor de transcripție, a profilului hormonal, în managementul tumoral și stadializarea în cazul Pit-NET-urilor și patologiei hipofizare în general. Al doilea subcapitol al acestei părți a trecut în revistă rolul imunohistochimiei, prin simple și duble imunoreacții în identificarea componentelor celulare, fibrilare, vasculare angiogenice și limfatice, dar și a interrelațiilor dintre acestea în fibroza pulmonară. Din punct de vedere imunohistochimic, imunoexpresia MAO la pacienți diabetici și non diabetici, în arterele mamare interne a fost prezentă în structura peretelui

vascular la nivel endotelial, în medie și adventice. Izoforma dominantă a fost reprezentată de MAO-B. Evaluarea imunohistochimică poate aduce informații utile referitoare la mecanismele de acțiune, etapele și rolul stresului oxidativ legat de MAO în patologia cardiovasculară, ținta principală fiind ajustarea terapiei cardiovasculare cu inhibitori reversibili MAO.

Al patrulea subcapitol al acestei prime părți a descris rolul imunohistochimiei în caracterizarea arhitecturii microstructurale și diferențierii celulare a ligamentului încrucișat anterior în diferite stadii post-lezionale. Rezultatele limitate ale intervențiilor chirurgicale dar și capacitatea de vindecare limitată a ligamentului au încurajat cercetările prin implicarea evaluărilor de tip RMN dar și a cercetării fundamentale, cu implicarea imunohistochimiei. Grupul de studiu a inclus 27 pacienți cărora, intraoperator, li s-au recoltat cu ajutorul artroscopului, două biopsii din componenta restantă tibială : una din capătul liber și una de la bază. Ariile lezionale au fost caracterizate de prezența celulelor CD34 pozitive printre fibrele de collagen ale ligamentului. Au fost remarcate valori medii ale microdensității vasculare la cazurile și în zonele cu leziuni ligamentare față de cele fără leziuni ligamentare. S-a notat un proces de angiogeneză activ în componentele restante ale ligamentelor încrucișate anterioare rupte, cu prezența vaselor de tip imatur și intermediar. Imunohistochimia și-a dovedit eficiența prin evaluarea modificărilor structurilor nervoase, cu ajutorul markerilor proteina S100 și proteina asociată neurofilamentelor. Valori mai mari ale intensității reacției au fost notate pentru proteina S100 față de NFAP în ariile ligamentului rupt. Nu s-au înregistrat diferențe mari ale expresiei S100 între ariile cu ligament rupt și cele cvasinormale. Referitor la expresia NFAP, ariile cu ligament cvasinormal au fost bogate în terminații nervoase libere și fibre nervoase mici, comparativ cu zonele ligamentare rupte și sinoviala. Imunohistochimia poate fi utilă în determinarea factorilor de creștere de tipul VEGF, FGF, EGF, PDGF, TGF-beta, în înțelegerea mecanismelor angiogenezei, osteogenezei, căilor mecanice implicate în dezvoltarea și întreținerea țesutului nativ.

Cel de al patrulea capitol al primei părți a vizat rolul prognostic, diagnostic și terapeutic al imunohistochimiei în leziunile maligne, cu accent asupra neoplaziilor uroteliale și renale, mamare, carcinoamelor scuamocelulare ale capului și gâtului, ovariene, pulmonare, limfoamelor non-Hodgkin, neoplaziilor colorectale, pancreatice, gastrice și metastazelor hepatice corespondente.

Primul subcapitol al acestei părți a subliniat imunoexpresia VEGF în carcinoamele uroteliale. Astfel, absența expresiei a fost asociată cu tipurile scuamocelular și adenocarcinoame. Nu au fost înregistrate corelații semnificative între expresia VEGF și tipurile histopatologice sau gradul de diferențiere. 13.33% dintre cazurile de carcinom urotelial invaziv au fost caracterizate de scor maxim, cu valoare 3 a VEGF. Intensitatea crescută a fost notată în vecinătatea frontului de proliferare, în 10% dintre celulele tumorale.

Evaluarea microdensității vasculare a fost realizată cu ajutorul simplelor (CD 34) și dublelor imunoreacții (CD31/Ki67 și Ki67/actina de tip mușchi neted). Valori mai mici ale MVD în ariile tumorale au fost notate la cazurile cu necroză extinsă și zone bine diferențiate de carcinom scuamocelular. Tipul histopatologic de adenocarcinom nu a prezentat diferențe semnificative între MVD din zona intratumorală comparativ cu cea peritumorală. Nu s-au observat corelații semnificative între MVD, VEGF și parametrii convenționali de prognostic. Valorile crescute ale MVD au fost în acord cu G și invazia vasculară. Tipurile principale de vase au fost imature, intermediare și mature. Vasele imature au predominat numeric în zona centrală a ariei tumorale, pe când cele intermediare, la periferia ariilor tumorale. Peritumoral, au fost remarcate vase intermediare și mature, cele imature fiind absente. Au fost prezentate corelații semnificativ statistice între numărul de vase intermediare, imature și mature din ariile intra și peritumorale și G, invazia limfovasculară în zonele intratumorale și peritumorale pentru mature. De asemenea, o corelație semnificativ statistică a fost observată între numărul total de vase, toate cele trei tipuri anterior menționate, din zonele intra și peritumorale al tuturor cazurilor evaluate. Pentru tipul histopatologic scuamocelular corelația semnificativă observată a fost între zonele intra și peritumorale pentru vasele imature, intermediare și mature și între numărul vaselor imature din zona peritumorală, G și invazia limfovasculară. În cazul adenocarcinoamelor s-au remarcat corelații semnificative între cele trei tipuri de vase ale zonelor intra și cele peritumorale, între G și invazia limfo-vasculară, între numărul vaselor mature intratumorale și G, între numărul de vase imature și mature peritumorale și G. Caracterul proliferativ al endoteliului a fost evidențiat cu ajutorul imunoexpresiei Ki67 și a dublei imunoreacții CD31/Ki67. Reacțiile CD34/actina de tip mușchi neted au oferit informații legate de gradul de maturare al vaselor și modelele lor de creștere, identificându-se patru subtipuri principale:

reticular, difuz, fascicular și trabecular. Modelul predominant a fost cel reticular, caracterizat de vase de tip matur, CD34+/actina de tip mușchi neted pozitivă. A fost notată și o corelație semnificativă între gradul de maturare al vaselor și cel tumoral. Analiza unor factori cheie în angiogeneza tumorală de tipul PDGF-B, a receptorului beta al acestuia, și a CLIC 1 a indicat corelație semnificativă între imunoexpresia PDGF-B și numărul vaselor imature și mature. Alte corelații semnificativ statistice au fost între PDGFRbeta și VEGF, VEGF165b și cu modelul vascular reticular, PDGF-B/PDGFRbeta și vasele mature și imature și VEGF165b. Imunoexpresia CLIC 1 a fost observată în 94% dintre cazuri. Scorul maxim, peste 3, a fost remarcat în 32 cazuri. Modelele principale de expresie au fost omogen (41 de cazuri) și heterogen (6 cazuri). Intensitatea reacției a fost crescută, în vecinătatea zonei de proliferare. Nu au fost înregistrate corelații semnificative între imunoexpresia CLIC 1 și gradul de diferențiere sau stadiul tumorii. 22.2% dintre cazurile de carcinoame renale evaluate au fost negative pentru DT, majoritatea de 77.8% fiind pozitivă. Cazurile pozitive au fost caracterizate de prezența a două modele de expresie și distribuție: omogen și heterogen. Imunohistochimia, în cazul carcinoamelor renale și uroteliale și-a demonstrat eficiența în cazul protocoalelor diagnostice dar oferă și posibilitatea de a propune și standardiza noi markeri utili în viitoarele clasificări moleculare.

În cazul neoplaziilor mamare, tabloul imunohistochimic frecvent utilizat în laboratorul nostru a cuprins următorii markeri: ER, PR, Her 2, Ki 67, AR, SMA, vimentina, Bcl2, E-caderina, P-caderina, keratina 5, EGFR, p 53, p63, Mamaglobina A, CD34, CD31, D2-40, VEGF-A și receptorii săi, triptaza mastocitară. Al doilea subcapitol al acestei părți a prezentat rezultatele studiilor noastre referitoare la imunoexpresia VEGF, microdensității vasculare și mamaglobinei A, proliferării endoteliale cu ajutorul imunoreacției CD34/Ki67, evaluarea microdensității mastocitare, a tipurilor principale, granulate și degranulate și distribuției acestora în aria tumorală, a raportului cu microdensitatea vasculară limfatică, particularitățile invaziei limfonodale, analiza Her2, E-caderinei, P-caderinei, CLIC 1. Rezultatele obținute atrag atenția asupra provocărilor și direcțiilor viitoare în cazul neoplaziilor mamare: combinarea soluțiilor terapeutice care să includă agenți anti-angiogenici, chimio și imunoterapia, identificarea și vizarea specifică a alterărilor la nivel molecular,

intervenții și soluții terapeutice personalizate și specifice, evitarea apariției rezistenței terapeutice prin identificarea unor noi biomarkeri.

Cel de al treilea subcapitol al acestei părți a vizat markerii heterogenității vasculare în neoplaziile ovariene, pulmonare și limfoamele non-Hodgkin. Imunoexpresia AC 133 a fost notată în 29.03% dintre cazurile de neoplazii ovariene, a Tie 2 în 33.87% dintre cazuri, iar co-expresia a fost observată în 27.42% dintre cazuri. În cazul neoplaziilor pulmonare, valorile medii ale microdensității vasculare au fost de 31.86 în adenocarcinoame, 23.28 în carcinoamele cu celule mici, 16 în carcinoamele cu celule mari, 23 pentru tipul hepatoid și 23.99 pentru tipul scuamocelular, cu predominanța vaselor imature și intermediare. Au fost observate corelații semnificativ statistice între tipul histopatologic și numărul vaselor imature și numărul vaselor mature, dar nu și cu numărul vaselor intermediare. Principalele tipuri de vase care au fost observate în ariile tumorale au fost de tip imatur, caracterizate de profilul CD34+/SMA- și absența lumenului (74.43%), intermediare, cu lumen perfuzat, CD34+/ SMA negativ sau slab pozitiv (11.13%) și mature cu profil CD34+/SMA+ (14.44%). Vaselor activate au fost notate în proporție de 87.18%, urmate de vasele mature activate în procent de 9.36% și cele mature (3.46%).

Al patrulea subcapitol al acestei părți a surprins principalii markeri imunohistochimici utilizați în carcinoamele scuamocelulare ale capului și gâtului, care pot fi grupați ca markeri de natură proteică (keratinele, vimentina, podoplanina, E-caderina); markeri ai proliferării celulare (p53, Bcl2); factori de creștere și receptori lor (EGF, EGFR, VEGF, VEGF-A; VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGF, PDGFAA, PDGFR- alfa, PDGFRbeta, NGF, HGF, c-met, TGF, Smad); markeri ai componentelor stromale (markeri ai mastocitelor, limfocitelor, celulelor dendritice foliculare, vaselor sanguine și limfatice). Analiza imunoexpresiei E-caderinei și HPV 18 a indicat, pentru cazurile HPV18 negative, valori scăzute ale E-caderinei în cazul localizărilor laringiene, hipo și rino-laringiene, în cazul încadrării în subtipurile bine diferențiate pentru laringe și moderat și slab diferențiate pentru ultimele două localizări. Carcinoamele cu localizare laringiană, în rino și hipofaringe au fost caracterizate de asocierea dintre valorile scăzute ale E-caderinei și tipurile moderat, slab și nediferențiat la cazurile HPV 18 negative. Valorile maxime ale E-caderinei s-au asociat cu localizarea orofaringiană, independent de statusul HPV 18. Indiferent

de imunoexpresia HPV 18 sau statusul negativ, metastazele limfonodale au prezentat un scor 3 al E-caderinei pentru carcinoamele scuamocelulare cu localizare laringiană. Cazurile moderat diferențiate de laringe au fost caracterizate de o corelație semnificativă între imunoexpresia HPV 18 și cea a E-caderinei. Evaluarea densității mastocitare și a microdensității vasculare a indicat corelații semnificativ statistice între microdensitatea mastocitară și tipul histopatologic în cazul carcinoamelor scuamocelulare. O corelație semnificativă a fost notată între microdensitatea mastocitară și gradele de diferențiere G1 și G2. Corelațiile semnificative remarcate au fost între celulele cu morfologie dendritică din ariile intra și peritumorale. A fost identificată o corelație semnificativă între statusul HPV 18 și celulele cu morfologie non-dendritică din aria peritumorală. Analiza a 42 de cazuri de carcinoame scuamocelulare, cu localizare laringiană, faringiană și la nivelul cavității orale, a indicat imunoexpresia EGFR în 85.71% dintre cazurile evaluate, cu o intensitate moderată sau crescută. 55% dintre aceste cazuri EGFR pozitive au co-exprimit p53. În 61% dintre cazurile EGFR pozitive s-a remarcat co-expresia keratinei 5. 75% dintre cazurile EGFR+/K5+ au co-exprimit CD117 și p63. Aceste aspecte imunohistochimice pot sugera delimitarea unui subgrup cu următorul profil: K5+/p63+/CD117+/EGFR+. Acesta poate fi numit "bazal-like". În categoria EGFR- s-au identificat următoarele subtipuri: EGFR-/p53-/Bcl2-/K5-/ E-caderină-; EGFR-/E-caderină+/K5+ și EGFR-/ E-caderină +/ K5-. S-a notat faptul că subgrupul EGFR+/ p53+/Bcl2- a prezentat corelații semnificative cu gradul tumoral și parametrii TNM. Studiile noastre au vizat analizarea imunoexpresiei EGFR și p53 în carcinoame scuamocelulare cu alte localizări: palatului dur, limbii, submandibulară, buzelor, șanțului gingival, piramidei nazale, maxilei, zigomatică. Utilizarea observațiilor rezultate din aceste studii poate contribui semnificativ la o mai bună stratificare a cazurilor, la îmbunătățirea marginilor de siguranță și rezecție chirurgicală, la o mai bună evaluare a prognosticului și răspunsului terapeutic.

Al cincilea subcapitol al primei părți a tezei a vizat o altă temă largă de studiu abordată în cadrul catedrei și Centrului de Cercetare în Angiogeneză din Timișoara, neoplaziile cu origine digestivă (colorectale, pancreatice și gastrice) și metastazele hepatice asociate. Au fost utilizate simplele imunoreacții cu anticorpi anti-CD34, CLIC 1 și dubla imunoreacție CD34/Ki67. Imunoexpresia CLIC1 în metastazele hepatice de origine colorectală cu un model de creștere desmoplazic

a prezentat un scor 3 în 9 cazuri și doar un singur caz a fost notat cu un scor 2. Imunoexpresia CLIC1 a fost heterogenă, citoplasmatică și cu o intensificare la nivelul membranei. Expresia CLIC1 a fost observată și în endoteliul vascular de la periferia zonei metastatice. În cazul metastazelor hepatice cu model de creștere prin înlocuire și origine colorectală, scorul 3 a caracterizat jumătate dintre adenocarcinoamele colorectale, restul prezentând un scor 2. Valori variabile ale scorului expresiei procentuale a CLIC 1, cuprinse între 0 (1 caz), 1 (1caz), 2 (2 cazuri), 3 (3 cazuri) au fost remarcate în adenocarcinoamele pancreatice. Metastazele hepatice cu model de creștere prin compresiune au fost evaluate cu scor 3 al expresiei CLIC 1 (2 cazuri cu origine gastrică) și scor 2 (1 caz cu punct de plecare gastric). Cele cu origine colorectală au fost caracterizate de un scor 3 majoritar și scor 2 (1caz). A fost notată o corelație semnificativ statistică între imunoexpresia CLIC 1 și vasele proliferante CD34+/Ki67+ în tumorile primare. Pentru toate cazurile de tumori primare care s-au dezvoltat cu model de creștere histologică prin compresiune, imunoexpresia CLIC 1 a fost corelată cu gradul de diferențiere. Valorile scorului CLIC 1 pentru metastazele cu model de creștere prin înlocuire au fost semnificativ corelate cu parametrul G al tumorilor primare corespondente. Expresia CLIC 1 în tumorile primare a fost corelată cu numărul vaselor proliferante CD34+/Ki67+ în metastazele hepatice cu model de creștere desmoplazic. Toate aceste rezultate au pledat pentru rolul prognostic al CLIC 1 în metastazele hepatice cu modele de creștere prin înlocuire și compresiune și cu rol terapeutic în modelele de creștere histologică de tip desmoplazic. Rezultatele obținute, în premieră pentru metastazele hepatice, referitoare la imunoexpresia CLIC 1, dar și cele asociate neoplaziilor mamare și uroteliale pot contribui la înțelegerea mecanismelor de formare și activare ale CLIC 1.

Următorul subcapitol s-a axat tot pe metastazele hepatice cu origine digestivă, de data aceasta din perspectiva fenomenului tranziției epitelio-mezenchimale. Cu ajutorul dublelor imunoreacții E-caderină/vimentină, K8/18/vimentină, E-caderină/ vimentină au fost identificate celule cu profil epitelial, mezenchimal, nediferențiat hibrid sau mezenchimal/epitelial și non-hibrid. Profilul epitelial/ mezenchimal a fost remarcat în toate cazurile, dar corelații semnificative au fost înregistrate între acesta și modelele de creștere prin înlocuire ale metastazelor hepatice cu origine colorectală și gastrică. A fost analizat comportamentul unei xenogrefe de metastaza hepatică, model de creștere

desmoplazică și origine colorectală, la nivelul membranei corioalantoide a oului embrionat. Au fost efectuate transferuri repetate pe suprafața membranei corioalantoide a oului embrionat. În prima zi după transfer au predominat fenotipurile epitelial și cel diferențiat epitelio-mezenchimal. Puține celule cu fenotip nediferențiat și mezenchimal au fost remarcate. Ziua a doua după transfer a fost caracterizată de reducerea expresiei E-caderinei și a celulelor cu fenotip epitelial (E caderină+/vim–; K8+/vim–), și de o ușoară creștere a numărului de celule cu fenotip epitelio-mezenchimal diferențiat. Celule izolate, cu fenotip epitelio-mezenchimal nediferențiat și mezenchimal au fost surprinse. A cincea zi după al doilea transfer a prezentat o creștere a intensității reacției pentru K8 în celulele cu fenotip epitelial și existența unor celule izolate, cu fenotip mezenchimal. Dublele imunoreacții CD34/Ki67 și D2-40/Ki67 au indicat două mecanisme principale pentru angiogeneza tumorală: intususcepție și înmugurire. Rezultatele obținute au susținut pe de o parte, heterogenitatea moleculară accentuată a celulelor tumorale metastatice în cadrul metastazării multiple la nivelul ficatului, iar pe de altă parte heterogenitatea răspunsului la terapie în aceste afecțiuni.

Subcapitolul final al acestei prime părți s-a axat pe descrierea efectelor aplicării Everolimusului și inhibării semnalizării Notch asupra angiogenezei și limfangiogenezei la nivelul membranei corioalantoide a oului embrionat. S-a observat că inhibarea semnalizării Notch a indus apariția unor rețele vasculare dezorganizate, caracterizate prin ramificare excesivă și joncțiuni endoteliale instabile. Notch a avut, de asemenea, un rol dependent de context în limfangiogenază, influențând diferențierea celulelor endoteliale limfatice și modelele de înmugurire. Aceste rezultate subliniază importanța semnalizării Notch în menținerea integrității vasculare și au evidențiat potențialul său ca țintă terapeutică în angiogeneza patologică. Everolimus a inhibat proliferarea endotelială și ramificarea vasculară, consecința fiind o rețea capilară mai puțin densă. Everolimus a modulată, de asemenea, limfangiogeneza, dependent de semnalizarea VEGF-C. Rezultatele obținute au contribuit la înțelegerea mecanismelor angiogenezei și limfangiogenezei, cu utilitate în selectarea viitoarelor strategii terapeutice.

A doua parte a tezei de abilitare a trecut în revistă principalele realizări academice, cu accent pe competențele academice și capacitatea de a îndruma

studenți și tineri cercetători. Activitatea în cadrul Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" din Timișoara a debutat în data de 1.10.2011, ca asistent universitar și a fost urmată de parcurgerea următoarelor etape: șef de lucrări (2014) și conferențiar (2018). Am fost implicată în predarea cursurilor și lucrărilor practice de Histologie, cu studenții seriilor de Medicină, limbile română, engleză, franceză, Asistență Medicală Generală, Medicină Dentară. Am predat lucrările practice și cursul opțional de Imunomorfologie pentru seriile română, engleză și franceză. Am coordonat, împreună cu alți colegi, activitățile grupurilor de studenți, în Timișoara și Viena, în cadrul proiectului "Calitate și competență profesională europeană în educația medicală și managementul activităților educaționale", 2010-2013. Am fost lector în cadrul cursurilor postuniversitare adresate studenților, rezidenților și tinerilor specialiști, în sfera patologiei mamare și hipofizare. Am redactat în calitate de prim autor sau co-autor cărți de specialitate adresate studenților, ghiduri pentru rezidenți, capitole în cărți internaționale. Am coordonat activitatea a 10 teze de licență în limbile română și franceză, activitatea publicistică a doctoranzilor, workshopuri studențești, cercurilor științifice studențești, studenților din cadrul programului V.A.D.A., seriile română și franceză.

Activitatea de cercetare a debutat în 2006, ca doctorand în cadrul Catedrei de Histologie a Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" din Timișoara. Activitatea de cercetare s-a dezvoltat și concretizat prin câștigarea, la nivel național, ca director de proiect a două granturi, a unuia în calitate de partener-responsabil proiect și membru în 10 proiecte CNCSIS/UEFISCDI. Am participat, la activități de cercetare a angiogenezei și limfangiogenezei în model experimental, pe membrana corioalantoidă a oului embrionat (CAM), în cadrul proiectului "Intussusceptive angiogenesis during development, tissue repair and carcinogenesis", Director proiect: Djonov Valentin, nr. 116243, Structural Research, valoare proiect: 260000 fr, 01.04.2007-31.05.2011, la Universitatea Fribourg, Elveția. Articolele publicate au fost apreciate și unele dintre ele premiate în cadrul Planului Național de Cercetare, Dezvoltare și Inovare 2007-2013, PNII, Program Resurse Umane, Subprogram "Premierea rezultatelor cercetării"1601/PN-II-RU- PRECISI 2013-7.

Diseminarea rezultatelor obținute în cadrul echipelor de cercetare în articole de specialitate a dus la existența unui număr de 1266 citări, a unui indice Hirsch de 20 (toți anii) și 15 (ultimii 5 ani), conform Web of Science.

Din 2007 am fost membru în Societatea Română de Morfologie Microcopică, iar din 2019 în Societatea Europeană de Oncologie Medicală și evaluator pentru reviste de specialitate. Din anul 2023 am devenit membru al Registrului Național al Experților pentru certificarea activității de cercetare-dezvoltare-REXCD, în baza Ordinului ministrului nr.20242/13.02.2023. La aceasta s-a adăugat activitatea de evaluator în cadrul competițiilor de tip PTE și PED. Din 2020 am fost numită membru în Subcomisia de Admitere și echivalare a notelor pentru cetățenii Uniunii Europene și Confederației Elvețiene.

Pentru perioada 2024-2029 am fost aleasă ca membru, în Consiliul Facultății de Medicină, din partea Catedrei universitare de Histologie, Departamentul II, Morfologie Microscopică, fiind membru în Comisia de Acreditare ARACIS și IAAR.

Cea de a patra secțiune a tezei se referă la perspectivele academice și științifice, cu integrarea în contextul național și internațional actual. Au fost detaliate planul de dezvoltare în domeniul academic și în domeniul științific. Ultima parte a tezei a cuprins referințele bibliografice.

LISTA CELOR 10 LUCRARI ȘTIINȚIFICE REPRESENTATIVE

1. Alda, Silvia; **Ceaușu, Raluca Amalia**; Gaje, Pușa Nela; Raica, Marius; Cosoroaba, Raluca Mioara; Mast Cell: A Mysterious Character in Skin Cancer, *In Vivo*. 2024;38(1):58-68. doi:10.21873/invivo.13410, IF 2024: 1.8.
<https://iv.iarjournals.org/content/invivo/38/1/58>
2. Adelmann, Tiberiu Gabriel; **Ceaușu, Amalia Raluca**; Gaje, Nela Pușa; Raica, Marius; Endothelial cell proliferation and vascular patterns in urothelial carcinoma, *Rom J Morphol Embryol*. 2024;65(1):61-67. doi:10.47162/RJME.65.1.08, IF 2024: 1.2. <https://doi.org/10.47162/RJME.65.1.08>
3. Boia, Eugen Radu; Boia, Simina; **Ceaușu, Amalia Raluca**; Gaje, Nela Pușa; Maaroufi, Sarrah Mariam; Șandru, Florica; Raica, Marius; The Follicular Dendritic Cells and HPV 18 Interrelation in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas of the Larynx, *Medicina* 2023; 59 (6): 1-9, DOI10.3390/medicina59061072, IF 2023: 2.4.
<https://www.mdpi.com/1648-9144/59/6/1072>
4. **Ceaușu, Amalia Raluca**; Ciolofan, Alexandru; Blidișel, Alexandru; Cosma, Andrei Alexandru; Gaje, Nela Pușa; Crețu, Octavian; Chloride Intracellular Channel Protein 1 Expression and Angiogenic Profile of Liver Metastasis of Digestive Origin, *Current Issues in Molecular Biology* 2023; 45(2): 1396-1406, DOI10.3390/cimb45020091, IF 2023: 2.8. <https://www.mdpi.com/1648-9144/59/6/1072>
5. **Ceaușu, Amalia Raluca**; Ciolofan, Alexandru; Blidișel, Alexandru; Crețu, Octavian Marius; Cîmpean, Anca Maria; Raica, Marius; Liver Metastatic Colorectal Tumor Cells Change Their Phenotype During Consecutive Passages on Chick Embryo Chorioallantoic Membrane: Lessons from the Lab to the Clinic, *In Vivo* 2021; 35(5): 2711-2718, DOI10.21873/invivo.12555, IF 2021: 2.406. <https://iv.iarjournals.org/content/invivo/35/5/2711>

6. **Ceaușu, Amalia Raluca**; Ciolofan, Alexandru; Cimpean, Anca Maria; Magheti, Adina; Mederle, Ovidiu; Raica, Marius; The Mesenchymal-Epithelial and Epithelial-Mesenchymal Cellular Plasticity of Liver Metastases with Digestive Origin, Anticancer Research 2018; 38(2): 811-816, DOI10.21873/anticancer.12288, IF 2018: 1.935. <https://ar.iijournals.org/content/anticancer/38/2/811>

7. Boia, Simina; Boia, Eugen Radu; Ceaușu, **Raluca Amalia**; Balica, Constantin Nicolae; Mederle, Ovidiu Alexandru; HPV18 Associated with E-cadherin Expression in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma, Revista de Chimie 2018; 69(10): 2638-2641, IF 2018: 1.605. https://www.academia.edu/download/69527266/8_20BOIA_2010_2018

8. Grigoraș, Dorin; Pirtea, Laurențiu; **Ceaușu, Raluca Amalia**; Endothelial progenitor cells contribute to the development of ovarian carcinoma tumor blood vessels, Oncology Letters 2014; 7(5): 1511-1514, DOI10.3892/ol.2014.1917, IF 2014: 1.554. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2014.1917>

9. Balica, Nicolae Constantin; **Ceaușu, Raluca Amalia**; Gaje, Pușa Nela; Doroș, Caius; Poenaru, Marioara; Microvessel and mast cell densities in malignant laryngeal neoplasm, Archive of Biological Science 2014; 66(3): 1163-1169, DOI10.2298/ABS1403163B, IF 2014: 0.718. <https://doiserbia.nb.rs/ft.aspx?id=0354-46641403163B>

10. **Ceaușu, Raluca Amalia**; Cimpean, Anca Maria; Dimova, Ivanka; Hlushchuk, Ruslan; Djonov, Valentin; Gaje, Pușa Nela; Raica, Marius; Everolimus Dual Effects of an Area Vasculosa Angiogenesis and Lymphangiogenesis, In Vivo 2013; 27(1): 61-66, IF 2013: 1.148. <https://iv.iijournals.org/content/invivo/27/1/61>

**„VICTOR BABEŞ” UNIVERSITY OF MEDICINE
AND PHARMACY FROM TIMIŞOARA
DOCTORAL SCHOOL
MEDICINE DOMAIN**



HABILITATION THESIS

IMMUNOHISTOCHEMISTRY AS A DIAGNOSTIC, PROGNOSTIC METHOD WITH IMPACT ON THERAPEUTIC STRATEGIES OF MALIGNANT AND NON-MALIGNANT LESIONS

A B S T R A C T

Assoc. Prof. CEAUȘU AMALIA RALUCA, MD PhD
Department II – Microscopic Morphology
Discipline of Histology

**Timișoara
2025**

ABSTRACT

This thesis includes the results of the academic, scientific and research activity that continued, completed or brought new valences to the research activity developed during the doctoral stage. The defense of the doctoral thesis, entitled "Immunohistochemical and gene profile of vascularization in liver metastases associated with colon cancer", coordinated by Mr. Prof. Dr. Marius Raica took place in 2011 and was followed by the obtaining of the doctorate in medicine, OMECTS no. 4387/06.06.2011. This thesis was developed in accordance with the recommendations of the Higher Education Law no. 199/04.07.2023, with subsequent amendments and completions and of the Methodology regarding the organization and conduct of the process of obtaining the habilitation certificate within the "Victor Babeş" University of Medicine and Pharmacy in Timișoara.

The habilitation thesis "Immunohistochemistry as a diagnostic, prognostic method, with impact in therapeutic strategies of malignant and non-malignant lesions" comprises four parts: scientific, academic achievements, professional activity and academic and scientific perspectives. The thesis begins with a brief presentation, after a short introduction, of some of the methods and techniques used in the immunohistochemistry laboratory of the Department of Histology, with a review of the stages of the technique from manual, semi-automatic and automatic methods for single, double immunoreactions and the RNAscope technique and their diagnostic and clinical utility.

The third chapter focused on the diagnostic and prognostic role of the immunohistochemistry technique in non-malignant lesions. Our studies demonstrated, in the first subchapter, the utility of immunohistochemistry, by identifying transcription factors, hormonal profile, in tumor management and staging in the case of Pit-NETs and pituitary pathology in general. The second subchapter of this part reviewed the role of immunohistochemistry, through single and double immunoreactions in identifying cellular, fibrillar, vascular angiogenic and lymphatic components, as well as the interrelationships between them in pulmonary fibrosis. From an immunohistochemical point of view, MAO immunoexpression in diabetic and non-diabetic patients, in the internal mammary arteries was present in the

vascular wall structure at the endothelial, media and adventitial levels. The dominant isoform was represented by MAO-B. Immunohistochemical evaluation can provide useful information regarding the mechanisms of action, stages and role of MAO-related oxidative stress in cardiovascular pathology, the main target being the adjustment of cardiovascular therapy with reversible MAO inhibitors.

The fourth subchapter of this first part described the role of immunohistochemistry in characterizing the microstructural architecture and cellular differentiation of the anterior cruciate ligament at different post-injury stages. The limited results of surgical interventions and the limited healing capacity of the ligament encouraged research involving MRI-type assessments as well as fundamental research involving immunohistochemistry. The study group included 27 patients who, intraoperatively, had two biopsies taken from the remaining tibial component using the arthroscope: one from the free part end and one from the base. The lesion areas were characterized by the presence of CD34 positive cells among the collagen fibers of the ligament. Average values of vascular microdensity were noted in cases and in areas with ligament lesions compared to those without ligament lesions. An active angiogenesis process was noted in the remaining components of the anterior cruciate ligaments, with the presence of immature and intermediate type vessels. Immunohistochemistry has proven its effectiveness by evaluating changes in nerve structures, using S100 protein marker and neurofilament-associated protein. Higher values of reaction intensity were noted for S100 protein compared to NFAP in areas of affected ligament. No significant differences in S100 expression were recorded between areas with torn ligament and quasi-normal ones. Regarding NFAP expression, areas with quasi-normal ligament were rich in free nerve endings and small nerve fibers, compared to torn ligament areas and synovium. Immunohistochemistry can be useful in determining growth factors such as VEGF, FGF, EGF, PDGF, TGF-beta, in understanding the mechanisms of angiogenesis, osteogenesis, mechanical pathways involved in the development and maintenance of native tissue.

The fourth chapter of the first part focused on the prognostic, diagnostic and therapeutic role of immunohistochemistry in malignant lesions, with an emphasis on urothelial and renal neoplasias, breast, squamous cell carcinomas of the head and neck, ovarian, lung, non-Hodgkin lymphomas, colorectal, pancreatic, gastric neoplasias and corresponding liver metastases.

The first subchapter of this part highlighted the immunoexpression of VEGF in urothelial carcinomas. Thus, the absence of expression was associated with squamous cell and adenocarcinoma types. No significant correlations were found between VEGF expression and histopathological types or degree of differentiation. 13.33% of the cases of invasive urothelial carcinoma were characterized by the maximum score, with a VEGF value of 3. Increased intensity was noted in the vicinity of the proliferation front, in 10% of the tumor cells.

The assessment of vascular microdensity was performed using single (CD 34) and double immunoreactions (CD31/Ki67 and Ki67/smooth muscle actin). Lower MVD values in tumor areas were noted in cases with extensive necrosis and well-differentiated areas of squamous cell carcinoma. The histopathological type of adenocarcinoma did not show significant differences between MVD in the intratumoral area compared to the peritumoral one. No significant correlations were observed between MVD, VEGF and conventional prognostic parameters. Increased MVD values were in agreement with G and vascular invasion. The main vessel types were immature, intermediate and mature. Immature vessels predominated numerically in the central area of the tumor, while intermediate vessels at the periphery of the tumor areas. Peritumorally, intermediate and mature vessels were noted, immature vessels being absent. Statistically significant correlations were shown between the number of intermediate, immature and mature vessels in the intra- and peritumoral areas and G, lymphovascular invasion in the intratumoral and peritumoral areas for mature type of vessels. Also, a statistically significant correlation was noticed between the total number of vessels, all three types previously mentioned, in the intra- and peritumoral areas of all evaluated cases. For the squamous cell histopathological type the significant correlation observed was between the intra- and peritumoral areas for immature, intermediate and mature vessels and between the number of immature vessels in the peritumoral area, G and lymphovascular invasion. In the case of adenocarcinomas, significant correlations were noted between the three types of vessels in the intra- and peritumoral areas, between G and lymphovascular invasion, between the number of mature intratumoral vessels and G, between the number of immature and mature peritumoral vessels and G. The proliferative character of the endothelium was highlighted using Ki67 immunoexpression and the CD31/Ki67 double immunoreaction. The CD34/smooth muscle actin reactions provided information

related to the degree of vessel maturation and their growth patterns, identifying four main subtypes: reticular, diffuse, fascicular and trabecular. The predominant pattern was the reticular one, characterized by mature vessels, CD34+/smooth muscle actin positive. A significant correlation was also noted between the degree of vessel maturation and the tumor. Analysis of key factors in tumor angiogenesis such as PDGF-B, its beta receptor, and CLIC 1 indicated a significant correlation between PDGF-B immunoexpression and the number of immature and mature vessels. Other statistically significant correlations were between PDGFRbeta and VEGF, VEGF165b and with the reticular vascular pattern, PDGF-B/PDGFRbeta and mature and immature vessels and VEGF165b. CLIC 1 immunoexpression was observed in 94% of cases. The maximum score, above 3, was noted in 32 cases. The main expression patterns were homogeneous (41 cases) and heterogeneous (6 cases). The intensity of the reaction was increased, in the vicinity of the proliferation area. No significant correlations were recorded between CLIC 1 immunoexpression and the degree of differentiation or tumor stage. 22.2% of the evaluated renal carcinoma cases were negative for DT, the majority of 77.8% being positive. The positive cases were characterized by the presence of two patterns of expression and distribution: homogeneous and heterogeneous. Immunohistochemistry, in the case of renal and urothelial carcinomas, has demonstrated its efficiency in the case of diagnostic protocols but also offers the possibility to propose and standardize new markers useful in future molecular classifications.

In the case of breast neoplasia, the immunohistochemical panel frequently used in our laboratory included the following markers: ER, PR, Her 2, Ki 67, AR, SMA, vimentin, Bcl2, E-cadherin, P-cadherin, keratin 5, EGFR, p 53, p63, Mamaglobin A, CD34, CD31, D2-40, VEGF-A and its receptors, mast cell tryptase. The second subchapter of this part presented the results of our studies on VEGF immunoexpression, vascular microdensity and mammaglobin A, endothelial proliferation using CD34/Ki67 immunoreaction, evaluation of mast cell microdensity, the main types, granulated and degranulated and their distribution in the tumor area, the relationship with lymphatic vascular microdensity, the particularities of lymph node invasion, analysis of Her2, E-cadherin, P-cadherin, CLIC 1. The results obtained draw attention to the challenges and future directions in the case of breast neoplasia: combining therapeutic solutions that include anti-angiogenic agents, chemotherapy and immunotherapy, identifying and specifically targeting alterations

at the molecular level, personalized and specific therapeutic interventions and solutions, avoiding the emergence of therapeutic resistance by identifying new biomarkers.

The third subchapter of this part focused on markers of vascular heterogeneity in ovarian, lung and non-Hodgkin lymphomas. AC 133 immunoexpression was noted in 29.03% of ovarian neoplasia cases, Tie 2 in 33.87% of cases, and co-expression was observed in 27.42% of cases. In the case of lung neoplasias, the mean values of vascular microdensity were 31.86 in adenocarcinomas, 23.28 in small cell carcinomas, 16 in large cell carcinomas, 23 for hepatoid type and 23.99 for squamous cell type, with a predominance of immature and intermediate vessels. Statistically significant correlations were noticed between the histopathological type and the number of immature vessels and the number of mature vessels, but not with the number of intermediate vessels. The main types of vessels found in the tumor areas were immature, characterized by the CD34+/SMA-profile and the absence of lumen (74.43%), intermediate, with perfused lumen, CD34+/SMA negative or weakly positive (11.13%) and mature with CD34+/SMA+ profile (14.44%). Activated vessels were noted in 87.18%, followed by activated mature vessels in 9.36% and mature ones (3.46%).

The fourth subchapter of this part described the main immunohistochemical markers used in head and neck squamous cell carcinomas, which can be grouped as protein markers (keratins, vimentin, podoplanin, E-cadherin); cell proliferation markers (p53, Bcl2); growth factors and their receptors (EGF, EGFR, VEGF, VEGF-A; VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGF, PDGFAA, PDGFR-alpha, PDGFRbeta, NGF, HGF, c-met, TGF, Smad); markers of stromal components (markers of mast cells, lymphocytes, follicular dendritic cells, blood and lymphatic vessels). The analysis of E-cadherin and HPV 18 immunoexpression indicated, for HPV18 negative cases, low E-cadherin values in the laryngeal, hypo and rhino-laryngeal locations, in the case of well-differentiated subtypes for the larynx and moderately and poorly differentiated for the last two locations. Laryngeal, rhino and hypopharyngeal carcinomas were characterized by the association between low E-cadherin values and moderately, poorly and undifferentiated types in HPV 18 negative cases. The maximum E-cadherin values were associated with oropharyngeal location, independent of HPV 18 status. Regardless of HPV 18 immunoexpression or negative status, lymph node metastases presented an E-

cadherin score of 3 for squamous cell carcinomas with laryngeal location. Moderately differentiated laryngeal cases were characterized by a correlation significant correlation between HPV 18 and E-cadherin immunoexpression. Evaluation of mast cell density and vascular microdensity indicated statistically significant correlations between mast cell microdensity and histopathological type in squamous cell carcinomas. A significant correlation was noted between mast cell microdensity and G1 and G2 differentiation grades. The significant correlations noted were between cells with dendritic morphology in the intra- and peritumoral areas. A significant correlation was identified between HPV 18 status and cells with non-dendritic morphology in the peritumoral area. Analysis of 42 cases of squamous cell carcinomas, with laryngeal, pharyngeal and oral cavity localization, indicated EGFR immunoexpression in 85.71% of the evaluated cases, with moderate or high intensity. 55% of these EGFR positive cases co-expressed p53. In 61% of EGFR positive cases, co-expression of keratin 5 was noted. 75% of EGFR+/K5+ cases co-expressed CD117 and p63. These immunohistochemical aspects may suggest the delimitation of a subgroup with the following profile: K5+/p63+/CD117+/EGFR+. This can be called “basal-like”. In the EGFR- category, the following subtypes were identified: EGFR-/p53-/Bcl2-/K5-/ E-cadherin-; EGFR-/E-cadherin+/K5+ and EGFR-/E-cadherin +/- K5-. It was noted that the EGFR+/ p53+/Bcl2- subgroup showed significant correlations with tumor grade and TNM parameters. Our studies aimed to analyze the immunoexpression of EGFR and p53 in squamous cell carcinomas with other locations: hard palate, tongue, submandibular, lips, gingival sulcus, nasal pyramid, maxilla, zygomatic. The use of observations resulting from these studies can significantly contribute to better stratification of cases, to improving safety margins and surgical resection, to a better assessment of prognosis and therapeutic response.

The fifth subchapter of the first part of the thesis focused on another large study topic addressed within the department and the Angiogenesis Research Center in Timișoara, neoplasms of digestive origin (colorectal, pancreatic and gastric) and associated liver metastases. Single immunoreactions with anti-CD34, CLIC 1 antibodies and the double immunoreaction CD34/Ki67 were used. CLIC1 immunoexpression in liver metastases of colorectal origin with a desmoplastic growth pattern presented a score of 3 in 9 cases and only one case was noted with a score of 2. CLIC1 immunoexpression was heterogeneous, cytoplasmic and with an

enhancement at the membrane level. CLIC1 expression was also noticed in the vascular endothelium at the periphery of the metastatic area. In the case of liver metastases with a replacement growth pattern and colorectal origin, score 3 characterized half of the colorectal adenocarcinomas, the rest presenting a score of 2. Variable values of the CLIC 1 percentage expression score, ranging from 0 (1 case), 1 (1 case), 2 (2 cases), 3 (3 cases) were noted in pancreatic adenocarcinomas. Liver metastases with a compression growth pattern were evaluated with CLIC 1 expression score 3 (2 cases with gastric origin) and score 2 (1 case with gastric starting point). Those with colorectal origin were characterized by a majority score 3 and score 2 (1 case). A statistically significant correlation was noted between CLIC 1 immunoexpression and CD34+/Ki67+ proliferating vessels in primary tumors. For all cases of primary tumors that developed with a compression histological growth pattern, CLIC 1 immunoexpression was correlated with the degree of differentiation. CLIC 1 score values for metastases with a replacement growth pattern were significantly correlated with the G parameter of the corresponding primary tumors. CLIC 1 expression in primary tumors was correlated with the number of CD34+/Ki67+ proliferating vessels in liver metastases with a desmoplastic growth pattern. All these results argued for the prognostic role of CLIC 1 in liver metastases with replacement and compression growth patterns and a therapeutic role in desmoplastic histological growth patterns. The results obtained, for the first time in the literature regarding CLIC 1 immunoexpression in liver metastases, but also those associated with breast and urothelial neoplasias, may contribute to the understanding of the mechanisms of formation and activation of CLIC 1.

The next subchapter also focused on liver metastases of digestive origin, this time from the perspective of the epithelial-mesenchymal transition phenomenon. By using of double immunoreactions E-cadherin/vimentin, K8/18/vimentin, E-cadherin/vimentin, cells with epithelial, mesenchymal, undifferentiated hybrid or mesenchymal/epithelial and non-hybrid profiles were identified. The epithelial/mesenchymal profile was noted in all cases, but significant correlations were recorded between it and the replacement growth models of liver metastases of colorectal and gastric origin. The behavior of a liver metastasis xenograft, desmoplastic growth pattern and colorectal origin, was analyzed at the level of the chorioallantoic membrane of the embryonated egg. Repeated transfers were

performed on the surface of the chorioallantoic membrane of the embryonated egg. On the first day after transfer, epithelial and differentiated epithelial-mesenchymal phenotypes predominated. Few cells with undifferentiated phenotype and mesenchymal were noted. The second day after transfer was characterized by the reduction of E-cadherin expression and epithelial phenotype cells (E cadherin+/vim-; K8+/vim-), and a slight increase in the number of differentiated epithelial-mesenchymal phenotype cells. Isolated cells with undifferentiated epithelial-mesenchymal and mesenchymal phenotypes were detected. The fifth day after the second transfer showed an increase in the intensity of the reaction for K8 in epithelial phenotype cells and the existence of isolated cells with mesenchymal phenotype. The double immunoreactions CD34/Ki67 and D2-40/Ki67 indicated two main mechanisms for tumor angiogenesis: intussusception and sprouting. The results obtained supported on the one hand, the accentuated molecular heterogeneity of metastatic tumor cells in the context of multiple liver metastasis, and on the other hand, the heterogeneity of the response to therapy in these conditions.

The final subchapter of this first part focused on describing the effects of Everolimus application and Notch signaling inhibition on angiogenesis and lymphangiogenesis in the chick chorioallantoic membrane of the embryonated egg. It was observed that Notch signaling inhibition induced the appearance of disorganized vascular networks, characterized by excessive branching and unstable endothelial junctions. Notch also had a context-dependent role in lymphangiogenesis, influencing lymphatic endothelial cell differentiation and sprouting patterns. These results emphasize the importance of Notch signaling in maintaining vascular integrity and highlighted its potential as a therapeutic target in pathological angiogenesis. Everolimus inhibited endothelial proliferation and vascular branching, resulting in a less dense capillary network. Everolimus also modulated lymphangiogenesis, dependent on VEGF-C signaling. The results obtained contributed to the understanding of the mechanisms of angiogenesis and lymphangiogenesis, with utility in the selection of future therapeutic strategies.

The second part of the habilitation thesis reviewed the main academic achievements, with an emphasis on academic skills and the ability to guide students and young researchers. The activity within the University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" in Timișoara began on 1.10.2011, as an assistant Professor and was followed by the following stages: lecturer (2014) and Associate Professor (2018). I

was involved in teaching lectures and Histology labs, with students of the Medicine series, Romanian, English, French, General Medical Assistance, Dental Medicine. I taught the practical works and the optional course of together with other colleagues, the activities of student groups, in Timișoara and Vienna, within the project "European quality and professional competence in medical education and management of educational activities", 2010-2013. I was a lecturer in postgraduate courses addressed to students, residents and young specialists, in the field of breast and pituitary pathology. I wrote as the first author or co-author specialized books addressed to students, guides for residents, chapters in international books. I coordinated the activity of 10 bachelor's theses in Romanian and French, the publishing activity of doctoral students, student workshops, student scientific circles, students from the V.A.D.A. program, Romanian and French series.

The research activity began in 2006, as a PhD student at the Department of Histology of the University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" in Timișoara. The research activity developed and materialized by winning, at the national level, as project director, two grants, one as project partner-responsible and member in 10 CNCSIS/UEFISCDI projects. I participated in research activities on angiogenesis and lymphangiogenesis in an experimental model, on the chorioallantoic membrane of the embryonated egg (CAM), within the project "Intussusceptive angiogenesis during development, tissue repair and carcinogenesis", Project director: Djonov Valentin, no. 116243, Structural Research, project value: 260000 fr, 01.04.2007-31.05.2011, at the University of Fribourg, Switzerland. The published articles were appreciated and some of them were awarded within the National Plan for Research, Development and Innovation 2007-2013, PNII, Human Resources Program, Subprogram "Research Results Awarding"1601/ PN-II-RU- PRECISI 2013-7.

The dissemination of the results obtained within the research teams in specialized articles led to a number of 1266 citations, a Hirsch index of 20 (all years) and 15 (last 5 years), according to Web of Science.

Since 2007 I have been a member of the Romanian Society of Microscopic Morphology, and since 2019 in the European Society of Medical Oncology and a reviewer for specialized journals. Since 2023 I have become a member of the National Register of Experts for the certification of research and development activity-REXCD, based on Ministerial Order no. 20242/13.02.2023. To this was added the activity of evaluator expert in PTE and PED competitions. Since 2020 I

have been appointed as a member of the Subcommittee for Admission and Equivalence of Grades for Citizens of the European Union and the Swiss Confederation.

For the period 2024-2029 I was elected as a member of the Council of the Faculty of Medicine, from the Department of Histology, Department II, Microscopic Morphology, being a member of the ARACIS and IAAR Accreditation Committee.

The fourth section of the thesis refers to the academic and scientific perspectives, with integration into the current national and international context. The development plan in the academic and scientific fields was detailed. The last part of the thesis included bibliographical references.

LIST OF 10 REPRESENTATIVE SCIENTIFIC PAPERS

1. Alda, Silvia; **Ceaușu, Raluca Amalia**; Gaje, Pușa Nela; Raica, Marius; Cosoroaba, Raluca Mioara; Mast Cell: A Mysterious Character in Skin Cancer, *In Vivo*. 2024;38(1):58-68. doi:10.21873/invivo.13410, IF 2024: 1.8.
<https://iv.iarjournals.org/content/invivo/38/1/58>
2. Adelmann, Tiberiu Gabriel; **Ceaușu, Amalia Raluca**; Gaje, Nela Pușa; Raica, Marius; Endothelial cell proliferation and vascular patterns in urothelial carcinoma, *Rom J Morphol Embryol*. 2024;65(1):61-67. doi:10.47162/RJME.65.1.08, IF 2024: 1.2. <https://doi.org/10.47162/RJME.65.1.08>
3. Boia, Eugen Radu; Boia, Simina; **Ceaușu, Amalia Raluca**; Gaje, Nela Pușa; Maaroufi, Sarrah Mariam; Șandru, Florica; Raica, Marius; The Follicular Dendritic Cells and HPV 18 Interrelation in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas of the Larynx, *Medicina* 2023; 59 (6): 1-9, DOI10.3390/medicina59061072, IF 2023: 2.4.
<https://www.mdpi.com/1648-9144/59/6/1072>
4. **Ceaușu, Amalia Raluca**; Ciolofan, Alexandru; Blidișel, Alexandru; Cosma, Andrei Alexandru; Gaje, Nela Pușa; Crețu, Octavian; Chloride Intracellular Channel Protein 1 Expression and Angiogenic Profile of Liver Metastasis of Digestive Origin, *Current Issues in Molecular Biology* 2023; 45(2): 1396-1406, DOI10.3390/cimb45020091, IF 2023: 2.8. <https://www.mdpi.com/1648-9144/59/6/1072>
5. **Ceaușu, Amalia Raluca**; Ciolofan, Alexandru; Blidișel, Alexandru; Crețu, Octavian Marius; Cîmpean, Anca Maria; Raica, Marius; Liver Metastatic Colorectal Tumor Cells Change Their Phenotype During Consecutive Passages on Chick Embryo Chorioallantoic Membrane: Lessons from the Lab to the Clinic, *In Vivo* 2021; 35(5): 2711-2718, DOI10.21873/invivo.12555, IF 2021: 2.406. <https://iv.iarjournals.org/content/invivo/35/5/2711>

6. **Ceaușu, Amalia Raluca**; Ciolofan, Alexandru; Cimpean, Anca Maria; Magheti, Adina; Mederle, Ovidiu; Raica, Marius; The Mesenchymal-Epithelial and Epithelial-Mesenchymal Cellular Plasticity of Liver Metastases with Digestive Origin, *Anticancer Research* 2018; 38(2): 811-816, DOI10.21873/anticancer.12288, IF 2018: 1.935. <https://ar.iijournals.org/content/anticancer/38/2/811>

7. Boia, Simina; Boia, Eugen Radu; Ceaușu, **Raluca Amalia**; Balica, Constantin Nicolae; Mederle, Ovidiu Alexandru; HPV18 Associated with E-cadherin Expression in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma, *Revista de Chimie* 2018; 69(10): 2638-2641, IF 2018: 1.605. https://www.academia.edu/download/69527266/8_20BOIA_2010_2018

8. Grigoraș, Dorin; Pirtea, Laurențiu; **Ceaușu, Raluca Amalia**; Endothelial progenitor cells contribute to the development of ovarian carcinoma tumor blood vessels, *Oncology Letters* 2014; 7(5): 1511-1514, DOI10.3892/ol.2014.1917, IF 2014: 1.554. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2014.1917>

9. Balica, Nicolae Constantin; **Ceaușu, Raluca Amalia**; Gaje, Pușa Nela; Doroș, Caius; Poenaru, Marioara; Microvessel and mast cell densities in malignant laryngeal neoplasm, *Archive of Biological Science* 2014; 66(3): 1163-1169, DOI10.2298/ABS1403163B, IF 2014: 0.718. <https://doiserbia.nb.rs/ft.aspx?id=0354-46641403163B>

10. **Ceaușu, Raluca Amalia**; Cimpean, Anca Maria; Dimova, Ivanka; Hlushchuk, Ruslan; Djonov, Valentin; Gaje, Pușa Nela; Raica, Marius; Everolimus Dual Effects of an Area Vasculosa Angiogenesis and Lymphangiogenesis, *In Vivo* 2013; 27(1): 61-66, IF 2013: 1.148. <https://iv.iijournals.org/content/invivo/27/1/61>