



# REZUMAT

## ASPECTE IMUNOHISTOCHIMICE CU IMPLICAȚII DIAGNOSTICE ȘI PROGNOSTICE ÎN TUMORILE MALIGNЕ EPITELIALE ȘI MELANOCITARE ALE REGIUNII CAPULUI ȘI GÂTULUI

**Student doctorand: MOACĂ RALUCA-MARIA**

**Conducător de doctorat: PROF. UNIV. HABIL. DR. ZARĂ FLAVIA**

Tumorile maligne cu origine epitelială și melanocitară în zona capului și gâtului constituie o problemă semnificativă de sănătate publică, atât la nivel global, cât și național, datorită incidenței în creștere și a mortalității și morbidității asociate ridicate. Importanța acestui domeniu nu se rezumă doar la frecvența acestor neoplazii, ci și la complexitatea diagnosticării și la variabilitatea evoluției clinice a pacienților. Stabilirea unui diagnostic diferențial între subtipurile histologice poate fi dificilă, în special în cazul tumorilor slab diferențiate sau a celor cu mare heterogenitate morfologică, situații în care criteriile microscopice convenționale nu asigură întotdeauna un diagnostic precis. În astfel de contexte, imunohistochimia reprezintă un instrument esențial, oferind informații critice despre originea celulară a neoplaziei și sprijinind realizarea unui diagnostic diferențial corect.

Rolul imunohistochimiei depășește identificarea tipului celular, întrucât variabilitatea clinică observată la pacienți cu tumori similare sugerează existența unor factori biologici relevanți care influențează progresia bolii și răspunsul la tratament.

Acești factori pot fi identificați prin analiza expresiei markerilor moleculari implicați în procese fundamentale precum proliferarea celulară, angiogeneza, invazia tumorală și interacțiunea cu sistemul imun. Înțelegerea acestor caracteristici ale tumorii are implicații directe asupra prognosticului și poate contribui la personalizarea strategiilor terapeutice.

Un alt element central investigat în cadrul acestei teze este rolul microdomeniului imun tumoral în inițierea și progresia neoplaziilor. Acest microdomeniu, alcătuit dintr-un infiltrat complex de limfocite T și B, macrofage, celule dendritice și alte tipuri celulare, interacționează cu celulele tumorale și poate influența atât proliferarea acestora, cât și răspunsul imun al gazdei. Analiza calitativă și cantitativă a infiltratului imun, corelată cu profilul imunohistochimic al tumorii, permite identificarea unor biomarkeri imunologici cu relevanță prognostică și terapeutică, deschizând perspective pentru selecția pacienților eligibili pentru terapii imunomodulatoare personalizate.

Obiectivul general al tezei constă în evaluarea detaliată a profilului imunohistochimic al tumorilor maligne epiteliale și melanocitare din regiunea capului și gâtului, cu scop diagnostic și prognostic. În acest sens, obiectivele specifice includ: determinarea expresiei markerilor diagnostici pentru diferențierea tipurilor și subtipurilor tumorale; evaluarea markerilor cu valoare prognostică și corelarea lor cu parametrii clinico-patologici; identificarea și cuantificarea componentelor microdomeniului imun tumoral și analiza distribuției acestora în funcție de tipul tumoral, gradul de diferențiere și stadiul bolii; stabilirea corelațiilor între expresia markerilor și datele clinico-epidemiologice pentru conturarea unor modele imunofenotipice relevante și, în final, elaborarea unui profil imunohistochimic integrat, util în diagnostic diferențial și stratificare prognostică.

Ipotezele tezei presupun că profilul imunohistochimic al tumorilor epiteliale și melanocitare prezintă caracteristici distincte, ce permit diferențierea precisă a tipurilor și subtipurilor histologice, mai ales în formele slab diferențiate. De asemenea, expresia markerilor cu valoare prognostică variază în funcție de gradul de diferențiere tumorală și de parametrii clinici, putând fi utilizată ca indicator al evoluției bolii. Microdomeniul imun tumoral, evaluat prin cuantificarea infiltratului și caracterizarea fenotipică a componentelor sale, diferă semnificativ între tumorile epiteliale și melanocitare,

reflectând particularități imunologice specifice fiecărui tip de neoplazie. În plus, se estimează existența unor corelații între expresia markerilor tumorali și intensitatea infiltratului imun, relevând mecanisme de evadare imună sau activitate imună antitumorală. Integrarea acestor date permite definirea unor modele imunofenotipice cu relevanță diagnostică și prognostică, utile în orientarea deciziilor terapeutice.

Scopul principal al cercetării este dezvoltarea unui model interpretativ unitar care să integreze date clinico-epidemiologice, morfologice și imunofenotipice ale tumorilor maligne epiteliale și melanocitare, contribuind la o înțelegere mai aprofundată a comportamentului biologic al acestora și la creșterea preciziei diagnosticului anatomo-patologic. Această abordare poate facilita identificarea biomarkerilor imunologici cu valoare prognostică și terapeutică, sprijinind selecția pacienților pentru terapii personalizate și optimizând managementul clinic al tumorilor capului și gâtului, aducând astfel o contribuție importantă în domeniul oncologiei și imunopatologiei.

Actuala teză de doctorat este structurată într-o Parte generală și o Parte specială. **Partea generală** cuprinde un prim capitol cu abordări conceptuale în tumorile maligne epiteliale și melanocitare din regiunea capului și gâtului. Această secțiune oferă un cadru conceptual și teoretic pentru studiul tumorilor maligne epiteliale și melanocitare, subliniind importanța lor ca problemă de sănătate publică. În contextul incidenței în creștere și al mortalității ridicate, cunoașterea detaliată a caracteristicilor anatomice și histologice ale regiunii capului și gâtului devine esențială pentru diagnosticarea corectă și pentru elaborarea strategiilor terapeutice. Urmează apoi un capitol cu elemente de anatomie și histologie ale regiunii capului și gâtului în care sunt descrise reperele anatomice ale regiunii, împărțite între regiunea cefalică și cea cervicală, precum și principalele elemente de histologie ale regiunii cap și gât. Se prezintă apoi clasificarea Organizației Mondiale a Sănătății, împărțită între tumorile epiteliale și cele melanocitare, evidențiind criteriile histologice, clinice și imunohistochimice utilizate în diagnostic și prognostic. Următoarea secțiune abordează aspectele histopatologice și imunohistochimice ale tumorilor, incluzând analiza microdomeniului imun în colorația hematoxilină–eozină care permite evaluarea morfologiei celulare și a arhitecturii tumorale, cât și profilul imunohistochimic, în care se detaliază markerii cu rol diagnostic, de sit primar și prognostic, precum și cei pentru evaluarea microdomeniului imun.

**Partea specială** cuprinde o parte introductivă în care se reafirmă importanța imunohistochimiei în diagnosticul diferențial și evaluarea prognosticului, precum și relevanța microdomeniului imun în biologia tumorilor. În capitolul Material și metode de lucru sunt prezentate loturile de pacienți, cu criteriile de includere și excludere, și structura cohortelor analizate. În continuare sunt prezentate tehnicile de prelucrare, cu detalii privind procesarea histologică și imunohistochimică, panelurile de markeri utilizați, metodele de cuantificare și metodele de analiză statistică aplicate pentru corelarea datelor clinico-patologice și imunofenotipice. Capitolul de Rezultate prezintă succint caracteristicile histologice și imunofenotipice ale tumorilor metastatice, morfologia carcinomului nazofaringian și expresia markerilor cu implicații prognostice, precum și particularități histologice și imunohistochimice, cu relevanța clinică și terapeutică ale melanomului mucos sinonazal. Discuțiile sunt realizate cu interpretarea rezultatelor, compararea cu literatura de specialitate, evidențierea corelațiilor între profilul imunohistochimic, microdomeniul imun tumoral și parametrii clinici, precum și implicațiile pentru diagnostic și prognostic. În cele din urmă, capitolul de Concluzii și contribuții personale evidențiază diferențele imunohistochimice între tumorile epiteliale și melanocitare, importanța microdomeniului imun și relevanța markerilor pentru prognoză. De asemenea, se subliniază contribuțiile originale: identificarea modelelor imunofenotipice și propunerea profilului imunohistochimic integrat pentru diagnostic diferențial și stratificare prognostică și în final integrarea profilului imunohistochimic cu caracteristicile microdomeniului imun tumoral, care oferă o perspectivă comprehensivă asupra biologiei tumorale și sprijină deciziile terapeutice personalizate, deschizând noi direcții de cercetare în oncologie și imunopatologie.



# **SUMMARY**

## **IMMUNOHISTOCHEMICAL ASPECTS WITH DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC IMPLICATIONS IN EPITHELIAL AND MELANOCYTIC MALIGNANT TUMORS OF THE HEAD AND NECK REGION**

**MOACĂ RALUCA-MARIA**

**Scientific Advisor  
PROF. UNIV. HABIL. DR. ZARĂ FLAVIA**

Malignant tumors of epithelial and melanocytic origin in the head and neck area constitute a significant public health problem, both globally and nationally, due to the increasing incidence and the associated high mortality and morbidity. The importance of this field is not limited to the frequency of these neoplasms, but also to the complexity of diagnosis and the variability of the clinical course of patients. Establishing a differential diagnosis between histological subtypes can be difficult, especially in the case of poorly differentiated tumors or those with great morphological heterogeneity, situations in which conventional microscopic criteria do not always ensure an accurate diagnosis. In such contexts, immunohistochemistry represents an essential tool, providing critical information about the cellular origin of the neoplasm and supporting the achievement of a correct differential diagnosis.

The role of immunohistochemistry goes beyond identifying cell type, as the clinical variability observed in patients with similar tumors suggests the existence of

relevant biological factors that influence disease progression and response to treatment. These factors can be identified by analyzing the expression of molecular markers involved in fundamental processes such as cell proliferation, angiogenesis, tumor invasion, and interaction with the immune system. Understanding these tumor characteristics has direct implications for prognosis and may contribute to the personalization of therapeutic strategies.

Another central element investigated in this thesis is the role of the tumor immune microdomain in the initiation and progression of neoplasia. This microdomain, composed of a complex infiltrate of T and B lymphocytes, macrophages, dendritic cells, and other cell types, interacts with tumors and can influence both their proliferation and the host immune response. Qualitative and quantitative analysis of the immune infiltrate, correlated with the immunohistochemical profile of the tumor, allows the identification of immunological biomarkers with prognostic and therapeutic relevance, opening perspectives for the selection of patients eligible for personalized immunomodulatory therapies.

The general objective of the thesis consists in the detailed evaluation of the immunohistochemical profile of malignant epithelial and melanocytic tumors of the head and neck region, for diagnostic and prognostic purposes. In this regard, the specific objectives include: determining the expression of diagnostic markers for differentiating tumor types and subtypes; evaluating markers with prognostic value and correlating them with clinicopathological parameters; identifying and quantifying the components of the tumor immune microdomain and analyzing their distribution according to tumor type, degree of differentiation and stage of the disease; establishing correlations between marker expression and clinical-epidemiological data to outline relevant immunophenotypic models and, finally, developing an integrated immunohistochemical profile, useful in differential diagnosis and prognostic stratification.

The hypotheses of the thesis assume that the immunohistochemical profile of epithelial and melanocytic tumors presents distinct characteristics, which allow the precise differentiation of histological types and subtypes, especially in poorly differentiated forms. Also, the expression of markers with prognostic value varies depending on the degree of tumor differentiation and clinical parameters, and can be used as an indicator of the evolution of the disease. The tumor immune microdomain,

evaluated by quantifying the infiltrate and phenotypic characterization of its components, differs significantly between epithelial and melanocytic tumors, reflecting immunological particularities specific to each type of neoplasia. In addition, it is estimated that there are correlations between the expression of tumor markers and the intensity of the immune infiltrate, revealing mechanisms of immune escape or antitumor immune activity. The integration of these data allows the definition of immunophenotypic models with diagnostic and prognostic relevance, useful in guiding therapeutic decisions.

The main goal of the research is to develop a unified interpretative model that integrates clinico-epidemiological, morphological and immunophenotypic data of malignant epithelial and melanocytic tumors, contributing to a deeper understanding of their biological behavior and increasing the accuracy of anatomic-pathological diagnosis. This approach may facilitate the identification of immunological biomarkers with prognostic and therapeutic value, supporting the selection of patients for personalized therapies and optimizing the clinical management of head and neck tumors, thus making an important contribution to the field of oncology and immunopathology.

The current doctoral thesis is structured in a General Part and a Special Part. The general part includes a first chapter with conceptual approaches in malignant epithelial and melanocytic tumors of the head and neck region. This section provides a conceptual and theoretical framework for the study of malignant epithelial and melanocytic tumors, highlighting their importance as a public health problem. In the context of the increasing incidence and high mortality, detailed knowledge of the anatomical and histological characteristics of the head and neck region becomes essential for correct diagnosis and for the development of therapeutic strategies. This is followed by a chapter with elements of anatomy and histology of the head and neck region in which the anatomical landmarks of the region are described, divided between the cephalic and cervical regions, as well as the main histological elements of the head and neck region. The World Health Organization classification is then presented, divided between epithelial and melanocytic tumors, highlighting the histological, clinical and immunohistochemical criteria used in diagnosis and prognosis. The following section addresses the histopathological and immunohistochemical aspects of tumors, including immune microdomain analysis in hematoxylin–eosin staining that allows for

the evaluation of cellular morphology and tumor architecture, as well as the immunohistochemical profile, which details markers with a diagnostic, primary site and prognostic role, as well as those for the evaluation of the immune microdomain.

The special part includes an introductory part in which the importance of immunohistochemistry in differential diagnosis and prognosis assessment is reaffirmed, as well as the relevance of the immune microdomain in tumor biology. The chapter Material and Methods presents the patient groups, with the inclusion and exclusion criteria, and the structure of the analyzed cohorts. The processing techniques are presented next, with details regarding the histological and immunohistochemical processing, the marker panels used, the quantification methods and the statistical analysis methods applied to correlate the clinicopathological and immunophenotypic data. The Results chapter briefly presents the histological and immunophenotypic characteristics of metastatic tumors, the morphology of nasopharyngeal carcinoma and the expression of markers with prognostic implications, as well as histological and immunohistochemical particularities, with the clinical and therapeutic relevance of sinonasal mucosal melanoma. Discussions are conducted with the interpretation of the results, comparison with the specialized literature, highlighting the correlations between the immunohistochemical profile, the tumor immune microdomain and clinical parameters, as well as the implications for diagnosis and prognosis.

Finally, the Conclusions and Personal Contributions chapter highlights the immunohistochemical differences between epithelial and melanocytic tumors, the importance of the immune microdomain and the relevance of markers for prognosis. Also, the original contributions are emphasized: the identification of immunophenotypic patterns and the proposal of the integrated immunohistochemical profile for differential diagnosis and prognostic stratification and finally the integration of the immunohistochemical profile with the characteristics of the tumor immune microdomain, which provides a comprehensive perspective on tumor biology and supports personalized therapeutic decisions, opening new research directions in oncology and immunopathology.