MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL ONCOLOGIC

Cu titlu de manuscris
C.Z.U. : 618.19-006.6-056.7: 616. 379-008.64(043)

TCACIUC DIANA

PARTICULARITĂŢI IMUNO-GENETICE ȘI CLINICO-MORFOLOGICE ALE CANCERULUI MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT TIP 2

321.20 – ONCOLOGIE ȘI RADIOTERAPIE

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU 2017

Teza a fost elaborată în cadrul laboratorului științific ”Mamologie Oncologică” al IMSP Institutul Oncologic din Republica Moldova.

Conducator stiintific: **SOFRONI Larisa,** dr.hab.șt.med., conferențiar cercetător
Referenti oficiali: **BELEV Nicodim,** dr.hab.șt.med., profesor universitar
VUDU Lorina, doctor în științe medicale, conferențiar universitar, USMF „N. Testemițanu”

Componența consiliului stiintific specializat:
TÎBÎRNĂ Gheorghe, **președinte**, dr.hab.șt.med., profesor universitar, academician
MUNTEAN Angela, **secretar științific**, dr. șt. med.,, conferențiar cercetător
MEREUȚA Ion, dr.hab.șt.med., profesor universitar
BOGDANSCAIA Nina, dr. hab. șt. med., conferențiar cercetător
STRATAN Valentina, dr.șt. biologice, conferențiar cercetător
ȘUTCHIN Vladimir, dr.hab.șt.med., conferențiar cercetător

Sustinerea va avea loc pe data de 07.06. 2017 la orele 12.00 în cadrul Ședinței Consiliului Științific Specializat D - 52.321.20 - 07 din cadrul IMSP Institutul Oncologic (str. N. Testemițanu, nr.30, mun. Chisinau, MD 2025, Republica Moldova).
Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la Bibililoteca Națională a Republicii Moldova si pe web site-ul www.cnaa.acad.md
Autoreferatul a fost expediat la 06 mai 2017

Secretar științific
al Consiliului Științific Specializat
D - 52.321.20 – 07 doctor în științe medicale
conferențiar cercetător _____ **Angela Munteanu**

Conducător științific
doctor habilitat în științe medicale,
conferențiar cercetător _____ **Larisa Sofroni**

Autor _____ **Diana Tcaciuc**

© Tcaciuc Diana, 2017

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța problemei abordate

Menţinerea sănătăţii populaţiei într-o stare satisfăcătoare este o condiţie obligatorie pentru dezvoltarea durabilă a oricărei naţiuni. Prin prizma politicilor şi strategiilor guvernamentale, sănătatea constituie unul dintre cele mai vizate elemente, datorită imenselor sale implicări individuale, sociale şi demografice. În Republica Moldova CGM ocupă primul loc în structura morbidităţii prin tumori maligne la femei. Incidenţa acestei localizări creşte din an în an, constituind în anul 2016 54,9 ‰ sau 10,7% [4,6].

Diabetul zaharat (DZ) ocupă o poziție de top în structura maladiilor endocrine în cele mai multe țări ale lumii, fiind numit „epidemie nonifecţioasă”. Conform datelor OMS, se denotă o creștere semnificativă a numărului persoanelor cu DZ care, afectează până în prezent circa 9% din populația lumii [2, 16]. Situaţia este similară şi în Republica Moldova, unde către anul 2016 au fost înregistrați 59,6 mii pacienți cu DZ. Se estimează ca cifra reală va atinge 160 de mii de cazuri, cu o tendință constantă de creștere [14].

Așadar, ambele maladii, DZ și CGM, sunt predominante în structura morbidității oncologice și endocrine, ale căror incidență este în creștere la nivel global.

Descrierea situaţiei în domeniul de cercetare şi identificarea problemelor de studiu.

Ca o consecinţă firească a creșterii morbidității atât prin CGM, cât și prin DZ tip 2, se înregistrează o ascensiune vădită a numărului de paciente cu asocierea acestor două patologii. Actualmente studiile științifice în domeniu denotă, că prezența DZ în mod constant este asociat cu un risc crescut de apariție și dezvoltare a cancerului de diferite localizări și anume: pancreasul, ovarele, corpul uterin, colorectal, etc. [1, 11]. Tot mai frecvent apar studii care semnalează un risc elevat de cancer al glandelor mamare la pacientele cu diabet zaharat tip 2 [15]. Conform părerilor a multor savanţi, diabetul este considerat un factor de risc major în apariţia şi evoluția CGM. Actualmente în lumea ştiinţifică se desfaşoară polemici active asupra cauzelor și mecanismelor dezvoltării patologiei oncologice la pacienţii cu DZ. Autorii susțin că DZ şi CGM au o prevalenţă mai mare în ţările dezvoltate, unde predomină un stil de viaţă sedentar, creșterea continuă a stresului, aport alimentar crescut de grăsimi saturate şi glucide rafinate [16]. Discutabil este și mecanismul corelării directe dintre CGM și DZ, ultimul având rol de marker biologic, care modifică riscul apariției și evoluției CGM. Reeșind din cele relatae mai sus, apar un șir de întrebări ce țin atât de aspectele imuno-genetice, cât şi cele clinico-morfologice ale pacientelor cu CGM şi DZ tip 2 [12, 13]. Pentru a răspunde la aceaste întrebări a fost necesară inițierea unui studiu științific multilateral, ce include ambele patologii: atât cancerul mamar, cât și DZ. Este cunoscut faptul, că DZ concomitent condiţionează la pacientele cu CGM restricţii vădite la toate etapele tratamentului, chiar în lipsa decompensării acestuia. Tratamentul chirurgical rămâne şi astăzi pilonul principal în algoritmul terapeutic al CGM, dar momentul operator şi tipul de intervenției chirurgicale practicat au suferit în lungul timpului modificări conceptuale. Pacientele cu CGM asociat cu DZ tip 2 prezintă o serie de particularități, care complică evoluția și rezultatele tratamentului. Pâna în prezent nu există o parere unică în vederea conduitei perioperatorii a pacientelor cu CGM și DZ, ținând cont de unele investigații speciale și particularități de pregatire către intervențiile chirurgicale. Complicaţiile specifice DZ tip 2, care sunt foarte frecvent depistate, condiţionează minimalizarea volumului intervenției chirurgicale sau chiar refuzul aplicării tratamentului chirurgical. Cu părere de rău, aceaste decizii deseori se rasfrâng asupra prognosticului şi supravieţuirii pacientelor. Deaceeia, problemele sus- menționate dictează necesitatea unei abordări specifice, multilaterale în individualizarea tratamentului acestei categorii de paciente.

Scopul studiului: Determinarea particularităţilor imuno-genetice şi clinico-morfologice la pacientele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 cu elaborarea algoritmului de apreciere al volumului optim al intervenţiilor chirurgicale.

Obiectivele studiului:

1. Studierea particularităţilor statusul imun specific a pacientelor cu CGM asociat cu DZ.
2. Determinarea prezenței mutației 5382insC în gena BRCA 1 şi estimarea corelaţiei acesteia cu modificările imune la pacientele din lotul de studiu.
3. Evaluarea interdependenţei între formele clinico-morfologice ale tumorilor maligne cu prezenţa mutaţiei majore a genei BRCA 1 la pacientele cu CGM şi DZ tip 2.
4. Studierea particularităților imuno-histochimice și corelația acestora cu prezența mutației în gena BRCA 1 5382insC la pacientele lotului de studiu.
5. Selectarea factorilor de risc în prognosticul CGM la pacientele cu DZ cu elaborarea algoritmului de determinare a volumului optim al intervenţiilor chirurgicale.

Metodologia cercetării științifice

Studiul efectuat a purtat un caracter clinico-analitic. În cercetare au fost utilizate metode științifice logistice așa ca analiza și sinteza, deducția și inducția, care au fost utilizate pentru reviul literaturii de specialitate și pentru formularea concluziilor. Observația directă și indirectă și comparația au stat la baza studiului clinic efectuat. Pentru selectarea pacientelor incuse în studiu s-au utilizat criteriile de includere şi excludere. Loturile de paciente au fost omogene şi comparabile. Analiza datelor științifice obținute s-a efectuat în baza criteriului ”caz-control”. Din punct de vedere etic studiul nu a inclus elemente de experimentare umană. Având în vedere prezenţa în studiu a indicilor cu mai multe variate (nominale şi scalare), datele statistice s-au prelucrat separat. Rezultatele obţinute au fost procesate statistic prin analizele variaţională, regresională, clusteriană, scanării multiple, factorială corelaţională ANOVA cu calcularea mediei aritmetice (*M*), erorii standard (*ES*), deviaţiei medii standard (*DS*), coeficienţilor de corelare parametrici (*r*) şi nonparametrici Spearman, Kendall tau, gamma (*Rr*). Veridicitatea diferenţei mediilor aritmetice (*P*) a fost comparată cu ajutorul criteriului (*t*) Student.

Noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute

1. S-a realizat un studiu complex cu determinarea modificărilor imuno-genetice, a particularităţilor clinice şi morfologice ale pacientelor cu CGM şi DZ tip 2.
2. S-a stabilit corelaţia aceştori parametri în funcţie de vârsta pacientelor, extinderea procesului tumoral, gradului de compensare al DZ tip 2 şi complicaţiile acestuia.
3. S-a determinat mutaţia majoră a genei BRCA1, ce a făcut posibilă stabilirea corelaţiei acesteia cu particularităţile imunologice și clinico-morfologice ale acestor paciente.
4. În baza cercetărilor analitice s-a apreciat gradul dependenţei şi influenţei determinismului imuno-genetic atât asupra evoluţiei clinice, cât şi a tipului morfopatologic al tumorilor maligne la pacientele cu CGM şi DZ tip 2.
5. S-au selectat factorii decisivi de risc în evoluția CGM în baza cărora s-a elaborat algoritmul de determinare al volumului optim al intervenției chirurgicale la pacientele date.

Problema științifică soluționată

Problema științifică soluționată constă în elaborarea algoritmului de apreciere a volumului optim al intervențiilor chirurgicale la pacientele cu CGM asociat cu DZ tip 2 în baza stabilirii factorilor primordiali de risc în evoluția cancerului mamar asociat cu DZ: subtipurile imunohistochimice triplu negativ, HER2/ neu pozitiv, prezența mutației 5382 insC, imunitatea antitumorală CD16/25 și celulară: CD8, CD3/4, formele clinice difuze, creșterea multicentrică a tumorilor, carcinomul lobular, mucinos și medular. Pacientelor cu criterii de prognostic

nefavorabil se recomandă imperativ efectuarea mastectomiilor radicale în defavoarea tratamentului organomenajant sau reconstructiv.

Importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării

Lucrarea dată se înscrie în cadrul strategic de cercetare ştiinţifică a Laboratorului Mamologie Oncologică al IMSP Institutul Oncologic din Republica Moldova.

Studiul realizat pune în evidență particularitățile imuno-genetice și clinico-morfologice ale pacientelor cu CGM și DZ tip 2, completând cercetările contemporane în domeniul mamologiei oncologice și diabetologiei. Evaluarea interdependenţei dintre timpul depistării, forma şi gravitatea DZ, a particularităţilor evoluţiei clinice, a dereglărilor imune, prezenţei mutaţiei majore în gena BRCA 1, a permis selectarea factorilor decisivi de risc în evoluția patologiei neoplazice la pacientele loturilor de studiu. Sumarul datelor obținute ne-a permis elaborarea unui algoritm de determinare a volumului optim al intervenţiei chirurgicale, care face posibilă personalizarea tacticii de tratament a pacientelor cu CGM și DZ. În rezultatul cercetării au fost stabilite și introduse în practica cotidiană principiile de conduită perioperatorie a pacientelor cu neoplazie mamara și diabet, ținând cont de numeroasele particularități specifice diabetului zaharat.

Rezultate științifice principale înaintate spre susținere

1. Pacientele cu CGM asociat cu DZ se caracterizează prin imunodepresie vădită antitumorală și generală.
2. Prezența mutației majore 5382insC în gena BRCA 1 la paciente cu CGM și DZ tip 2 a fost depistată de 2 ori mai frecvent, decât la cele fără DZ cu o corelație semnificativă a acesteia cu imunodeficiența celulară a pacientor lotului de studiu. Totalitatea dereglărilor imune caracteristice DZ au un rol declanșator în veriga imunopatogenetică cu inducerea mutației la nivelul genei BRCA1 la pacientele cu cancer mamar.
3. Pacientele cu CGM și DZ prezentă unele particularități clinice în comparație cu cele fără diabet: frecvența mai înaltă a formelor difuze (potențial mai agresive), a creșterii multicentrice a tumorilor și a unui grad mai avansat de extindere loco-regională cu un indice înalt de corelație a mutației inaltpenetrante în gena BRCA1.
4. CGM asociat cu DZ prezintă unele particularități morfologice: frecvența mai înaltă a carcinomului lobular, a carcinomului mixt - ductal și lobular și a formelor rare: medulare și mucinoase. Pacientele cu DZ prezintă patomorfoză mai pronunțată, față de cele fără diabet. Indicele corelativ cu gena BRCA1 5382insC prezintă valori inalte și semnificative.
5. La pacientele cu CGM și DZ tip 2 predomină formele imunohistochimice cu un grad de agresivitate sporit: subtipurile moleculare triplu negativ și Her2/neu pozitiv față cu o corelație dintre profilului imunohistochimic cu prezența mutației în gena BRCA1.
6. Factorii decisivi de risc în evoluția cancerului mamar la pacientele cu DZ sunt: subtipurile imunohistochimice triplu negativ, HER2/ neu pozitiv, prezența mutației 5382 insC, imunitatea antitumorală CD16/25, și celulară: CD8, CD3/4, formele clinice difuze, creșterea multicentrică a tumorilor, carcinomul lobular, mucinos și medular.

Implementarea rezultatelor științifice: Valoarea științifică a rezultatelor studiului a fost aprobată și implementată atât în IMSP Institutul Oncologic: secțiile de mamologie, de chimioterapie și radioterapie, cabinetele de profil ale CCD, cât și de către oncologii raionali și medicii de familie. Rezultatele studiului dat au stat la baza elaborării algoritmului de determinare al volumului optim al intervenţiei chirurgicale, care permite personalizarea tacticii de tratament a pacientelor cu CGM și DZ tip 2.

Aprobarea rezultatelor: Rezultatele ştiinţifice obţinute au fost prezentate şi discutate la 16 forumuri naţionale şi internaţionale (Moldova, România, Ucraina, Russia, Portugalia), conferinţele anuale ale Colaboratorilor şi Studenţilor USMF ”N. Testemiţanu”, şedinţele Societăţii Oncologilor ale IMSP IO în anii 2012 şi 2015. Rezultatele tezei au fost discutate şi aprobate la şedinţa laboratorului ştiinţific Mamologie Oncologică a IMPS Institutul Oncologic din Republica Moldova din 30 decembrie 2015 şi în cadrul Seminarului Ştiinţific de Profil „Oncologie şi Radioterapie” al MS RM din 07 decembrie 2016.

Publicatii la tema tezei: Materialele cercetării au fost reflectate în 36 de publicaţii ştiinţifice, inclusiv 12 articole, 1 publicaţie de monoautorat, 23 comunicări rezumative la forumuri internaţionale şi naţionale. Rezultatele studiului au fost raportate în 7 rapoarte internaţionale şi 7 naţionale, 2 cereri pentru brevete de invenţii şi 3 inovaţii.

Volumul şi structura tezei: Lucrarea este expusă pe 150 pagini de text electronic şi se compartimentează în: introducere, 4 capitole, sinteza rezultatelor obţinute, concluzii generale şi recomandări, indicele bibliografic cu 178 de surse citate. Materialul ilustrativ include 28 de tabele, 38 figuri şi 7 anexe. Teza conţine şi declaraţia privind asumarea răspunderii şi CV-ul.

Cuvinte cheie: cancerul glandei mamare, diabet zaharat tip 2, limfocite T, BRCA1 5382insC, carcinom triplu negativ, Her 2/neu pozitiv, volumul optim chirurgical.

CONTINUTUL TEZEI

1. VIZIUNI CONTEMPORANE ASUPRA STATUSULUI IMUNO-GENETIC ŞI CLINICO-MORFOLOGIC AL CANCERULUI GLANDEI MAMARE LA PACIENTELE CU DIABET ZAHARAT TIP 2. REVIUL LITERAR

Capitolul 1 conţine viziuni conceptuale contemporane privind aspectele etiopatogenetice în determinismul neoplaziilor oncologice şi a DZ tip 2. S-au analizat publicaţiile ce abordează diverse modalităţi de asociere a CGM şi DZ tip 2: particularităţi de diagnostic, evoluţie clinică, conduită perioperatorie şi de tratament a acestor paciente. Sunt stipulate opiniile dualiste asupra influienţei concomitenţei CGM şi DZ. În mod deosebit s-au studuat publicaţiile ce ţin de particularităţile imunităţii generale şi antitumorale, de mutaţiile genetice specifice, de aspectele clinico-morfologice şi de tratament, inclusiv, chirurgical al pacientelor cu CGM şi DZ.

2. MATERIALUL ŞI METODELE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a metodologiei cercetării şi designul studiului

Studiul reprezintă o analiză complexă, structurală şi prospectivă a datelor clinice, anamnestice, imuno-genetice şi morfopatologice a 246 paciente cu CGM investigate şi tratate în IMSP IO în anii 2010-2014. Pacientele investigate au fost divizate în 2 loturi: lotul I (lotul de bază) a fost format din 107 paciente cu CGM şi DZ tip 2 şi 139 paciente cu CGM fără DZ, care au format lotul II (lotul de control). Vârsta medie a pacientelor incluse în studiu a constituit 57,56 ± 0,21 ani. La 108 paciente din lotul general în premieră s-a efectuat analiza genetică pentru prezenţa mutaţiei înaltpenetrante 5382insC în gena BRCA 1. Pacientele au fost incluse în studiu în baza criteriilor de includere şi excludere, care au fost respectate strict.

Criteriile de includere în studiu:

1. Diagnosticul confirmat de GCM;
2. Diagnosticul confirmat de DZ tip 2;
3. Vârsta între 40 – 75 ani;
4. Acordul pacientei.

Criteriile de excludere din studiu au fost următoarele:

1. Diabet zaharat tip 1;
2. Hepatitele virale cronice şi cirozele;
3. Tratament cu glucocorticosteroizi (nu mai mult de 2,0 mg/kg/corp în ultimele 10 zile);

4. Tratamentul chimioterapic şi radioterapic neoadjuvant efectuat ultimele 21 zile;
5. Patologia cardiacă şi pulmonară decompensată;
6. Insuficienţa renală (gradul IV-V K-DOQI);
7. Refuzul pacientei de a participa în studiu.

Drept sursă principală de informație despre parametrii studiați au servit observațiile asupra pacientelor, fişele medicale şi datele din cartele de ambulator. În scopul procesării statistice au fost elaborate chestionare cu codificarea datele clinice şi paraclinice ale pacientelor.

2.2. Metodologia de cercetare şi de acumulare a datelor

Investigațiile standarde la pacientele lotului de studiu au fost efectuate în laboratoarele: biochimic, imuno-genetic, morfologia tumorilor, secțiile tomografie computerizată și ecografie, radioimagistică ale IMSP Institututl Oncologic şi în Centrul Național de Sănătate Publică, Laboratorul de Referință în Microbiologie. Au fost utilizate:

1. Metodele de investigații pentru aprecierea și confirmarea diagnosticului de CGM şi aprecierea extinderii procesului tumoral, conform PCN 102 Cancer mamar, elaborat în 2008, revăzut în 2012/2015;

2. Investigații specifice pentru stabilirea diagnosticului și aprecierea gradului de compensare al diabetului zaharat tip 2. Toate pacientele au fost consultate de endocrinolog și investigate conform PCN 33 ”Diabet zaharat necomplicat”, elaborat în 2008, revăzut în 2012/2015.

Investigaţiile citologice au fost efectuate în laboratorul citologic al IMSP IO, pregătind frotiuri prin biopsia aspiratorie a tumorilor şi ganglionilor limfatici cu fixarea şi colorarea prin metode standard.

Confirmarea caracterului morfopatologic al tumorii şi starea ganglionilor limfatici regionali a fost efectuată în laboratorul morfopatologic al IMSP IO. Fixarea şi colorarea preparatelor s-a realizat prin metoda standard cu hematoxifilin-eozină.

Investigațiile imunohistochimice (IHC) s-au efectuat prin metoda evaluării semicantitative a expresiei nucleare a RE, RP în raport cu scorul Allred și cu anticorpi monoclonali pentru determinarea expresiei Her2/neu, utilizând tehnici imunohistochimice de rutină. În funcţie de statusul RE, RP şi Her 2/neu am încadrat cazurile în 4 clase moleculare conform clasificării St Gallen international expert consensus 2013.

Investigaţii imunologice s-au efectuat în laboratorul imuno-genetic al INSP Institutul Oncologic. S-au studiat unii indici ai imunităţii: T limfocite CD3; CD4; CD8; CD16 , de asemenea raportul indiciilor CD4/CD8 , care s-a efectuat prin teste de imunofenotipare cu aprecierea antigenelor CD (subpopulaţii ale limfocitelor).

Investigaţiile genetice au fost efectuate în Centrul Național de Sănătate Publică, Laboratorul de Referință în Microbiologie. În studiu am utilizat setul BRCA1 5382insC test, producția laboratorului *OOO «ГеноТехнология»* din Moscova.

2.3. Metode de procesare statistică a rezultatelor obţinute

Rezultatele evaluărilor cantitative ale valorilor parametrilor investigaţi au fost supuse analizei statistice după metoda cercetării selective, evaluând mediile aritmetice şi erorile acestora.Ținând cont de prezenţa grupelor cu mai multe tipuri ale variatelor (nominale şi scalare), pentru prelucrarea statistică au fost utilizate două variante de prelucrare corelativă: cu ajutorul criteriului χ^2 și cercetare a valorilor tip scalar după metoda Student şi analizei dispersiei. Materialul acumulat a fost analizat statistic, aplicându-se programele *IBM SPSS Statistics pentru Windows, versiunea 20 şi Microsoft Excel 2010*, prin diferite metode de

apreciere a veridicității: criteriul de corespundere $\chi 2$, criteriul t-Student de comparare a valorilor medii, indicele de corelare r**,** etc.

3. PARTICULARITĂȚILE IMUNO-GENETICE ȘI CARACTERISTICILE COMPARATIVE CORELAȚIONALE CU MUTAȚIA ÎN GENA BRCA1 LA PACIENTELE CU CGM ȘI DZ

3.1. Determinarea mutației 5382insC în gena BRCA1 la pacientele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2

Reamintim, că s-a apreciat mutația înaltpenetrantă BRCA1 la 108 paciente cu CGM: la 64 cu CGM şi DZ tip 2 şi la 44 cu CGM fără DZ. Analizând rezultatele obținute, am constatat prezența mutației majore 5382insC în gena BRCA 1 la 21,87% paciente cu CGM și DZ tip 2 și de 2 ori mai puțin, doar la 11,36 % paciente fără DZ ($p<0,01$) (tabelul 3.1).

Tabelelul 3.1**Prezența mutației majore 5382insC în gena BRCA1 la pacientele lotului de studiu**

Loturile de studiu	**Prezența mutației în gena BRCA1** N abs. (%)		**Indicii corelării CGM, DZ tip 2 cu prezența mutației 5382insC în gena BRCA1**	
CGM şi DZ tip 2 (n-64)	14 (21,87%)	p<0,01	r=0,93	p<0,005
CGM fără DZ tip 2 (n-44)	5 (11,36%)		r=0,34	
Total	19 (17,59%)			

Analiza factorială prin metoda *ANOVA* cu parametrizarea limitată prin σ a prezentat o corelare dependentă pentru mutația în gena BRCA1 5238insC în lotul pacientelor incluse în studiu. La pacientele cu CGM și DZ tip 2 se denotă un grad înalt de corelare al CGM cu prezența mutației genetice BRCA1 5382insC (r=0,93), în comparație cu pacientele cu CGM fără DZ tip 2, care posedă un grad de 3 ori mai scăzut de corelare - (r=0,34), ($p<0,005$).

Dependența factorială obținută demonstrează, că caracteristicile genetice depistate prin mutația înaltpenetrantă 5382insC în gena BRCA1 corelează atât cu cancerul mamar, cât și cu DZ tip 2.

3.2. Particularitățile statusului imun celular nespecific și corelarea factorială cu mutația 5382insC în gena BRCA1 la pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2

Stabilirea interdependenței dintre evoluția CGM în asociere cu DZ tip 2 cu modificările sistemului imun prezintă o problemă importantă în patogenia acestor maladii. Am efectuat un șir de cercetări a determinantelor celulare (CD) și anume CD 3, CD 4 CD 8 și CD 16. Scopul principalal acestui subcapitol a fost compararea acestor rezultate între loturile de paciente și analiza corelării cu mutația genetică înaltpenetrantă BRCA1. S-a constatat că nivelurile ***T limfocitelor CD3*** sunt scăzute în ambele loturi de paciente (47,84% ±0,07 și 48,11% ±0,04), dar fără semnificație statistică, ce caracterizează o imunodepresie în ambele loturi, preponderent în lotul cu prezența DZ. Cercetarea corelațională a prezenței mutației înaltpenetrante 5382insC în gena BRCA1 și statusului imun celular la pacientele cu CGM (prin analiza factorială aplicând metoda ANOVA cu parametrizarea limitată prin σ) a demonstrat, că în cazul T limfocitelor CD3 lipsește o oarecare interdependență cu BRCA1, indicele corelațional fiind nesemnificativ pentru toate grupurile de paciente,($p>0,05$), (tabelul 3.1).

O altă subpopulație a limfocitelor T, ce determină reglarea răspunsului imun și realizează funcțiile efectoare sunt ***limfocitele T-helperi CD4.*** Indicele T limfocitelor CD4 este vădit mai mic - 27,4 %±0,15 în lorul pacientelor cu CGM și DZ, față de cele fără DZ - 35,7 %±0,04 , cu semnificație statistică între loturi ($p<0,01$).

Tabelul 3.1**Valorile indicilor relativi limfocitari ale pacientelor incluse în studiu**

Lotul de studiu	**Indici relativi limfocitari CD (%), M ± m**			
	CD3	**CD4**	**CD8**	**CD16**
Lotul I (CGM cu DZ)	47,84 ±0,07	27,4±0,15	14,3±0,12	14,3±0,25
Lotul II (CGM fără DZ)	48,11 ±0,04	35,7±0,04	19,3±0,13	21,2±0,56
Valoarea indicelui p	>0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,01

Examinarea corelării prezenței mutației genei BRCA1 5382insC cu valorile relative ale T limf. CD4 a determinat, că cele mai semnificative valori s-au prezentat în cazul asocierii CGM şi DZ tip 2, față de o asociere corelativă mai mică - în cazul pacientelor cu CGM fără DZ.

Analizând concentrația limfocitelor ***T supresoare CD8*** am constatat, că valori mai scăzute - 14,3% ±0,12 - s-au înregistrat la pacientele cu CGM şi DZ tip 2, față de cele nondiabetice - 19,3±0,13 (p<0,01). În așa fel, observăm o micșorare a reactivității imune T limfocitelor CD8 pentru toate pacientele incluse în studiu. În cazul T limfocitelor CD8 s-a înregistrat corelarea factorială cu mutația în gena BRCA1 cu o tendința de micșorare a concentrației acestora şi inducerea unei imunodeficiențe secundare, cum se întâmplă în cazul pacientelor cu CGM - indicele corelării a constituit 0,62 (p <0,05) dar, mai semnificativ, în DZ tip 2 - cu indicele de corelație 0,95 (p <0,001).

Aşadar, analiza particularităților statusului imun celular nespecific (CD3, CD4, CD8) constată o micșorare considerabilă a valorilor determinantelor respective, fapt ce demonstrează repercursiunea DZ asupra imunității pacientelor cu CGM.

3.3. Particularitățile statusului imun celular antitumoral şi corelarea factorială cu mutația 5382insC în gena BRCA1 la pacientele incluse în studiu

Un alt scop al cercetărilor noastre a fost determinarea *T limfocitelor CD16* (celule NK - *natural killer*), cu impact semnificativ în patogenia neoplazică. Analizând concentrația T limfocitelor CD16 la pacientele incluse în studiu, am obținut valori scăzute de 1,5 ori la pacientele cu DZ (14,3%±0,25), față de cele fără DZ (21,2 % ±0,56), (p<0,01), (tabelul 3.1). O explicație pentru o astfel de scădere a activității celulelor CD16 se poate baza pe nivelurile crescute ale factorului de transformare a creşterii (TGF)-β şi PGE2 în DZ, ambele inhibând activitatea celulelor CD 16. Analiza factorială prin metoda ANOVA cu parametrizarea limitată prin σ a genei BRCA1 în CGM în funcţie de nivelul T limfocitelor CD16, constată indicele de corelare cel mai înalt - 0,99. Pentru valorile înalte ale concentrației T limfocitelor CD16 am obținut o corelare invers proporțională cu imunitatea antitumorală şi prezența DZ- r= - 0,83. Putem concluziona, că mutațiile în gena BRCA1 pot determina o evoluție mai agresivă a maladiei prin inhibiția proliferării limfocitare CD16, care, de fapt, reprezintă imunitatea antitumorală a organismului. Rezultatele studiului permit de a presupune că prezența mutației înaltpenetrante în gena BRCA1 ar determina hipoactivarea limfocitelor CD16 cu inhibiția reacției citotoxice specifice antitumorale de divers tip. Această ipoteză este valabilă şi în cazul pacientelor cu CGM, mai ales în asocierea DZ de tip 2.

4. PARTICULARITĂȚI CLINICO-MORFOPATOLOGICE ALE CANCERULUI MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT TIP 2

4.1. Particularități de vâstă şi funcția reproductivă la pacientele cu CGM şi DZ

Actualmente este recunoscut faptul, că vârsta este un factor de risc nemodificabil în apariția CGM. Vârsta medie a pacientelor din primul lot a constituit 59,0±0,76 ani (valoarea minimă – 40 ani şi maximă – 75 ani), iar din lotul II – 56,17±0,89 ani (valoarea minimă – 40 ani şi maximă – 75 ani) (p<0,01). Prin urmare, putem afirma că pacientele cu CGM şi DZ tip 2 se adresează mai frecvent la o vârstă mai înaintată, decât pacientele cu CGM fără DZ. Analiza

corelațională între depistarea CGM la pacientele din loturile studiate cu perioada biologică a organismului a demonstrat, că la majoritatea pacientelor care suferă de ambele patologii, cancerul mamar se dezvoltă în perioada menopauzală (57,01% vs 29,5%, p<0,01), ce poate fi explicat prin perturbările hormonale specifice perioadei biologice respective și totalitatea alterațiilor induse de metabolismul modificat de DZ. Dacă ne referim la prezența mutației BRCA1 5382insC în dependență de perioada biologică, atunci la pacientele cu CGM și DZ tip 2 prezența mutației genetice BRCA1 5382insC se depistează mai frecvent în perioada reproductivă, menopauzală și postmenopauzală, pe când la pacientele fără DZ - preponderent în perioadele reproductivă și premenopauzală.

4.2. Aprecierea parametrilor ponderali ai pacientelor incluse în studiu

Analiza parametrilor IMC (Indicele Masei Corporale) a pacientelor lotului de studiu a demonstrat, că majoritatea pacientelor cu CGM, care suferă și de DZ au prezentat obezitate de diferit grad în 89,72% cazuri, ce e de 2 ori mai frecvent în comparație cu pacientele care nu suferă de diabet - 48,92%. Aceste constatări se pot explica prin faptul, că obezitatea, din punct de vedere oncologic, poate fi privită prin două prisme: prima - o sursă endogenă suplimentară de estrogeni, care se formează ca rezultat al aromatizării androstendiolului cu acumularea acestora în țesutul adipos subcutanat, a doua – prezența dereglărilor endocrino-metabolice caracteristice pentru obezitate, ceea ce denotă, că obezitatea reprezintă o verigă patogenetică primordială în dezvoltarea atât al CGM, cât și a DZ tip II.

4.3. Mecanismele de control al diabetului zaharat la pacientele cu cancer mamar

Prezintă un mare interes studierea raportul dintre timpul de acțiune al DZ, a gradului de compensare al acestuia cu momentul diagnosticării CGM. Am stabilit, că la 16,0% paciente diagnosticate cu cancer mamar diabetul a fost depistat ocazional în rezultatul investigațiilor de laborator efectuate, cu alte cuvinte aceste două patologii severe au fost depistate practic simultan. Până la 5 ani au suferit de diabet 43 paciente (40,0%), iar 28 (26,0%) au suferit de DZ de 5 la 10 ani și doar 19 (18,0%) cazuri – 10 ani și mai mult. Durata medie de existență a DZ până la momentul depistării cancerului mamar a constituit 4,78 ± 0, 11 ani. Analizând gradul de compensare al DZ tip 2 în dependență de valorile hemoglobinei glicozilate (HbA1c) am obținut următoarele rezultate: DZ compensat a fost stabilit practic la fiecare a doua pacientă cu DZ - 54,20%, grad subcompensat al diabetului a fost stabilit la fiecare a treia pacientă din studiu - 39,20%, în stadiu decompensat s-au adresat doar 6,54 % paciente (tab. 4.1).

Tabelul 4.1 **Gradul de compensare al diabetului zaharat la pacientele cu CGM și DZ tip 2**

Lotul pacientelor	Nivelul HbA1		
	4-6% (compensat)	6,1-7,5% (subcompensat)	>7,5% (decompensat)
Pacientele cu CGM și DZ (n-107)	58 (54,20%)	42 (39,20%)	7 (6,54 %)
Cu tratament neoadjuvant (n=38)	7 (18,4 %)	27 (71,1 %)	4 (10,5 %)
Fără tratament neoadjuvant (n=69)	51 (73,9 %)	15 (21,7%)	3 (4,3 %)
p	<0,01	<0,01	<0,05

Datele obținute pot fi explicate prin: impactul de decompensare al statusului somatic precedent terapiei neadjuvante pentru cancerul mamar, acțiunii hiperglicemiate a glucocorticosteroizilor utilizați în unele scheme de tratament și durata prolongată a stresului psihoemoțional.

4.4. Formele clinice și răspândirea procesului malign la pacientele investigate

Formele clinice ale cancerului mamar și răspândirea loco-regională a procesului malign au o importanță deosebită pentru stabilirea diagnosticului și aprecierea tacticii de tratament a pacientelor. Pacientele lotului de studiu au prezentat următoarele formele clinice ale cancerului

mamar: forma nodulară (cu prezența unei tumori) a fost depistată la majoritatea pacientelor din ambele loturi -78,5% paciente din lotul I vs 88,49% - paciente din lotul II (p>0,05). Creșterea multicentrică (două tumori) a fost depistată de 2 ori mai frecvent la pacientele care sufereau și de DZ - 9,35%, față de cele fără DZ- 4,32% (p<0,01). Formele difuze ale CGM au fost, de asemenea, de 2 ori mai frecvent inregistrate la pacientele lotul I - în 10,28% vs 5,04% - în lotul II (p<0,01). Cancer de tip Paget a fost înregistrat în 1,87% cazuri lotul I vs 2,16% - paciente lotul II (p<0,01) (tabelul. 4.2)

Tabelul 4.2 **Formele clinice ale cancerului mamar la pacientele incluse în studiu**

Lotul pacientelor		Forma clinică			
		Nodulară		Difuză	Paget
Lotul I (n-107)		Unicentrică	Multicentrică	11 (10,28%)	2 (1,87%)
		84 (78,5%)	10 (9,35%)		
A	BRCA1 5382insC +	5 (35,71%)	5 (35,71%)	4 (28,57)	0
B	BRCA1 5382insC -	37 (74,0%)	6 (12,0%)	7 (14,0%)	0
p_{A-B}		<0,01	<0,01	<0,01	-
Lotul II (n=139)		123 (88,49%)	6 (4,32%)	7 (5,04%)	3 (2,16%)
C	BRCA1 5382insC +	1 (20,0%)	3 (60,0%)	1 (20,0%)	0
D	BRCA1 5382insC -	30 (76,92%)	3 (7,69%)	6 (15,38%)	0
p_{C-D}		<0,01	<0,01	<0,05	-
p_{I-II}		>0,05	<0,01	<0,01	>0,05
Corelarea cu BRCA1 (r)		r=0,45	r=0,98	r=0,95	r=0,51

În așa fel, putem constata, că formele clinice ale CGM cu un potențial de evoluție mai agresiv s-au depistat mai frecvent la pacientele cu CGM și DZ, față de cele fără DZ. Pentru a depista posibila corelație între formele clinice ale CGM cu prezența mutației în gena BRCA1 am comparat rezultatele obținute. Grad înalt de corelare au prezentat formele nodulare cu creștere multicentrică (r=0,98) și cele difuze (r=0,95) (p<0,01), comparativ cu celelalte forme clinice. La pacientele cu CGM după verificarea citologică sau morfologică a procesului malign, extinderea procesului s-a determinat conform sistemului TNM, elaborat de OMS, ediția a VII, revăzut în 2010. Conform valorilor indicilor TNM a fost stabilit și stadiul maladiei. Prin urmare, putem concluziona, că pacientele cu CGM și DZ sunt diagnosticate în stadii mai avansate ale procesului oncologic, față de semenii lor, cu diferență statistică semnificativă (tabelul 4.3).

Tabelul 4.3.Repartizarea pacientelor incluse în studiu în funcţie de stadiul maladiei (TNM)

Loturile de studiu	**Gradul de răspândire al procesului malign**				
	st. I	**st. IIA**	**st. IIB**	**st. IIIA**	**st. IIIB**
Lotul I(n=107)	1 (0,93 %)	20 (18,69 %)	50 (46,72%)	10 (9,34 %)	26(24,29 %)
Lotul I(n=139)	9 (6,47%)	45 (32,37%)	66 (47,48 %)	5 (3,59%)	14(10,07%)
P	<0,01	<0,05	>0,05	<0,01	<0,01

Acest fapt ar putea fi explicat și prin vigilența oncologică redusă la această categorie de paciente din motivul DZ asociat, care necesită o conduită specială cotidiană, și nu în ultimul rânr, prin agresivitatea procesului neoplazic în diabet. Dacă ne referim la gradul de extindere loco-regională al procesului malign am obținut următoarea repartiție: nu au fost afectați ganglionii limfatici la 21,5% paciente cu CGM și DZ și la 36,69% - fără DZ asociat (p<0,05). Practic la fiecare a doua pacientă din ambele loturi (54,21% și 53,24%) au fost afectați ganglionii limfatici axilari (p>0,05), afectarea ganglionilor limfatici axilari și subclaviculari a

fost atestată de două ori mai frecvent la pacientele cu diabet, față de cele nondiabetice - 24,3% vs 10,7% ($p<0,01$). Analizând gradul de răspândire al procesului neoplazic în funcție de prezența mutației BRCA1 5382insC la pacientele cu CGM și DZ tip 2 am constatat, că la toate pacientele cu mutație în gena respectivă au fost afectați ganglionii limfatici: cei axilari în 21,42%, iar cei axilari și subclaviculari de 3,7 ori mai frecvent- în 78,57% cazuri.

4.5. Caracteristica morfopatologică și imunohistochimică a tumorilor maligne la pacientele cu cancer mamar cu diabet zaharat asociat

Analizând formele morfopatologice ale CGM în lotul pacientelor incluse în studiu, am obținut următoarele datele:

Carcinomul nespecific ductal a fost depistat cu frecvență înaltă în ambele loturi de studiu: 61 paciente (57%) lotul I vs 110 cazuri (79,13%) - în lotul II, cu preponderență semnificativă la pacientele nondiabetice ($p<0,01$).

Carcinomul lobular s-a depistat de 2 ori mai frecvent - în 13 cazuri (12,14%) la pacientele lotul I vs 7 cazuri (5,03%) – în lotul II ($p<0,01$).

Formele mixte - asocierea carcinom ductal și lobular s-a depistat la fel de 2 ori mai frecvent - în 11 cazuri (10, 28%) în lotul I vs 6 cazuri (4,31%) – în lotul II ($p<0,01$).

Formele morfologice rare ale cancerului mamar: carcinomul medular a fost apreciat la 5 paciente (4,67%) din lotul I și la 4 (2,88%) - din lotul II ($p<0,05$), carcinomul mucinos a fost depistat de 2,5 ori mai frecvent - în 7 cazuri (6,54%) în lotul pacientelor cu diabet, față de lotul pacientelor nondiabetice - 4 cazuri (2,88%), ($p<0,01$), carcinom tubular și papilar s-au înregistrat în câte un caz în ambele loturi: 0,93% - în lotul I și 0,72% - în lotul II, fără diferență statistic semnificativă ($p>0,05$). Patomorfoză pronunțată (gr. III și IV) în urma tratamentului administrat au prezentat mai frecvent pacientele care sufereau și de diabet (7, 47%) și practic de 1,7 ori mai rar pacientele nondiabetice (4,31%) cu diferență statistică semnificativă. Analiza comparativă corelațională dintre formele morfologice ale tumorilor la pacientele cu CGM și DZ cu prezența mutației genetice denotă, că următoarele forme morfologice ale cancerului: lobular, mixt, medular și mucinos au prezentat grad înalt de corelare ($r=0,94-0,97$), ($p<0,01$). Prezența patomorfozei pronunțate, de asemenea, a corelat semnificativ cu mutația în gena BRCA1 la pacientele investigate cu indicele $r=0,76$ ($p<0,05$).

Examenul imunohistochimic relevă tipul molecular al cancerului mamar, care reprezintă caracteristicile biologice de importanță ale tumorilor maligne. După cum s-a menționat, diagnosticul histopatologic furnizează o serie de indici morfologici cu valoare prognostică majoră, dar investigația IHC mai poate evalua factorii cu valoare predictivă asupra tratamentului, precum receptorii de estrogen (RE), receptorii de progesteron (RP) şi Her 2/neu.

Cu scopul stabilirii particularităților biologice ale tumorilor s-au apreciat RE, RP**,** Her 2/neu și indicele de proliferare Ki-67. Pentru repartizarea pacientelor conform profilului profilului imunohistochimic am utilizat clasificaţia moleculară a cancerului mamar (St Gallen, 2013).

1. RE+/RP+/ Her 2/neu – negativ, Ki-67<15% (tip luminal A)
2. RE+/RP+/ Her 2/neu +pozitiv Ki-67>15% (tip luminal B)
3. Subtipul Her 2/neu + pozitiv (Her 2/neu + pozitiv)
4. Subtipul RE– /RP–/ Her 2/neu –negativ (triplu negative)

La pacientele investigate în cadrul studiului am stabilit, că tipul luminal A a fost stabilit la 42,05% paciente cu CGM și DZ în comparație cu 56,83% - la cele nondiabetice. Tipul luminal B a fost depistat la 11,21% cazuri în lotul I, în comparație cu 15,17% - în lotul II. La pacientele cu CGM și DZ a fost stabilit subtipul *Her 2/neu + pozitiv* practic la fiecare a patra pacientă – în 25,23% și semnificativ mai rar în lotul pacientelor fără DZ - numai în 16,54% cazuri. În toate

loturile de paciente am căpătat diferență semnificativă (p<0, 05). Subtipul triplu negativ a fost stabil în 21,49% paciente cu CGM și DZ și de 2 ori mai puțin – numai la 11,51% - la cele nondiabetice (p<0,01).

Dacă concluzionăm cele relatate mai sus, putem constata predominarea formelor imunohistochimice cu un grad de agresiune sporit la pacientele cu CGM și DZ asociat (*Her 2/neu + pozitiv* cu expresia negativă al RE și RP și *RE– /RP–/Her2– triplu negativ*), față paciente fără DZ, care au prezentat subtipuri moleculare cu un potențial mai puțin agresiv *(RE+/RP+/Her2–).* Analiza corelațională dintre profilului imunohistochimic cu prezența mutației în gena BRCA1 denotă o corelație semnificativă cu indicii de corelare r=0,79 - 0,82 la pacientele ambelor loturi (p<0,01).

4.6 Factorii de risc în prognosticul evoluției CGM la pacientele cu DZ

În rezultatul investigațiilor complexe efectuate și expuse în capitolele precedente am determinat valoarea factorilor decesivi de risc în prognosticul evoluției CGM la pacientele cu DZ tip 2, prezentată în tab. 4.4

Tabelul 4.4 Setul factorilor decisivi în prognosticul evoluției cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat asociat (F-ratio, %95F)

Denumirea factorilor de risc	Variantele factorilor	Coeficientul F-ratio	Frecvența % 95F
Statusul imun	~CD16/25	9,6	19,0
	~CD3/4	5,2	14,5
	~CD8	7,1	17,0
	↓CD16/25	*82,7*	*91,0*
	↓CD3/4	*58,3*	*62,5*
	↓CD8	*69,4*	*73,5*
Mutația + BRCA1 5382insC	BRCA1 5382 +	*89,9*	*96,5*
	BRCA1 5382 -	15,4	19,0
Forma clinică	Nodular	34,9	41,5
	nodular multicentric	*68,3*	*75,0*
	forme difuze	*72,6*	*81,0*
Tipului molecular imunohistochimic	tip luminal A	11,1	18,5
	tip luminal B	49,8	52,0
	HER2 neu + pozitiv	*87,5*	*91,0*
	triplu negativ	*91,4*	*98,5*
Formele morfologice	Nespecific	23,1	27,5
	Lobular	*74,3*	*78,5*
	Ductal lobular	*54,7*	*59,0*
	Mucinos	*64,3*	*68,5*
	Medular	*61,9*	*66,0*
	Tubular	21,6	24,5

Utilizând F-testul Fisher s-a ierarhizat totalitatea indicilor cu importanța majoră în evoluția CGM la pacientele cu DZ tip 2. Am repartizat multitudinea factorilor de risc pe blocuri: blocul factorilor molecular-imunohistochimici, a prezenței mutației în gena BRCA1 5382 insC, a statusul imunității antutumorale și a variantei clinice și morfologice a tumorii.

În așa fel, caracteristica moleculară a tumorilor este un factor major în prognosticul evoluției CGM. Tipul imunohistochimic molecular triplu negativ a fost stabilit la 21,49% paciente cu CGM și DZ și de 2 ori mai puțin, numai la 11,51% - la pacientele fără DZ (p<0,01). Subtipul Her 2/neu + pozitiv a fost depistat la 25,23% paciente cu CGM și DZ și semnificativ mai puțin în lotul pacientelor fără DZ în - 16,54% cazuri. În toate loturile de paciente diferența este statistic semnificativă (p<0, 05). După ponderea matematică acești factori s-au plasat pe

locurile I și III. Prezența mutației majore 5382insC în gena BRCA 1 a fost depistată la 21,87% paciente cu CGM și DZ tip 2 și de 2 ori mai puțin, doar la 11,36 % paciente fără DZ ($p<0,01$), plasând acest factor pe locul II. Analizând concentrația T limfocitelor CD16, factorul IV după ponderea matematică, am obținut valori medii la 54,20% vs 39,56% ($p_{I-II}<0,01$) și valori înalte de 3 ori mai rar la pacientele cu CGM și DZ, în comparație cu pacientele nondiabetice: în 12,87% și 40,31% ($p_{I-II}<0,01$), date ce demonstrează o modificare esențială în statusul imun antitumoral la pacientele ce suferă de CGM asociat cu DZ tip 2. Formele morfologice ale tumorilor- carcinomul lobular - se plasează pe locul V, iar carcinomul medular și mucinos - pe locul IX. În așa fel, carcinom lobular s-a depistat în 13 cazuri (12,14%) în lotul I și de 2,3 ori mai rar - în 7 cazuri (5,03%) – în lotul II ($p<0,01$), forma mixtă (ductal-lobulară) a carcinomului a fost stabilită în 11 cazuri (10,28%) în lotul I și de 2 ori mai rar – în 6 cazuri (4,31%) – în lotul II ($p<0,01$). Carcinomul medular a fost depistat în 5 cazuri (4,67%) în lotul lotul I și în 4 cazuri (2,88%) - în lotul II ($p<0,05$), carcinomul mucinos - în 7 cazuri (6,54%) în lotul I și de 2,3 mai rar – în 4 cazuri (2,88%) - în lotul II ($p<0,01$), fapt care denotă prezența la pacientele care suferă și de DZ a formelor potențial mai agresive pentru evoluția loco-regională și la distanță a maladiei. În topul ierarhizării factorilor decisivi de risc formele clinice ale maladiei, anume cele difuze, s-au plasat pe locul VI și carcinomul nodular multicentric - pe locul VIII. Dacă ne referim la rolul statusului imun general ca factor deciziv de risc, am stabilit că anume limfocitele T supresoare CD8 pot fi considerate ca importante și s-a constatat, că anume pacientele cu CGM și DZ tip2 prezintă valori scăzute de 8 ori mai frecvent, față de pacientele cu CGM fără DZ tip2 (54,20% vs 7,19%), plasând acest factor pe locul VII.
Ierarhizarea factorilor decisivi de risc în evoluția CGM la pacientele cu DZ este reprezentată în figura 4.1.

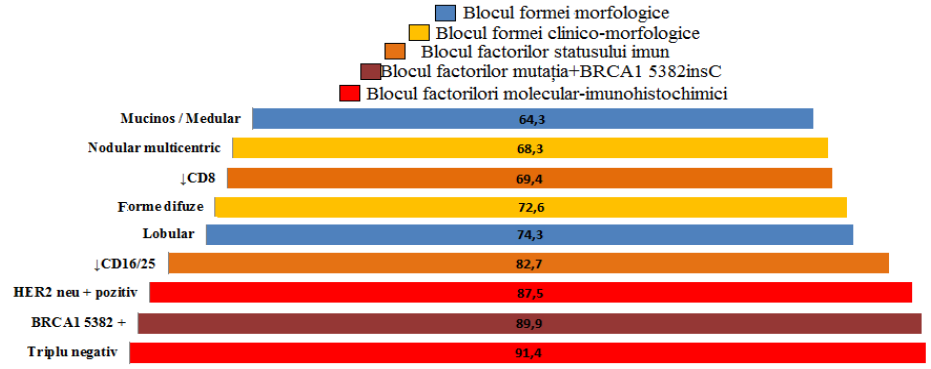


Fig. 4.1 Ierarhizarea factorilor decisivi de risc în evoluția CGM la pacientele cu DZ tip2

4.7 Particularități de tratament ale pacientelor cu CGM asociat cu diabet zaharat tip 2

Tratamentul specific pentru CGM este un unul complex care include polichimioterapia, radioterapia, metoda chirurgicală și hormonoterapia. Selectarea tratamentului administrat pacientelor cu cancer mamar a fost condiționat de vârsta pacientelor, răspândirea procesului malign, localizarea procesului neoplazic, patologiile concomitente ale organismului, etc. Pentru pacientele cu CGM asociat cu DZ tip 2 s-au luat în considerație gravitatea și gradul de compensare al diabetului, nivelul glicemiei, complicațiile specifice diabetului (cardiopatii, nefropatii, micro-macroangiopatii, dereglări dismetabolice, etc.). Pentru pacientele incluse în studiu atât tratamentul radiochimioterapic, cât și cel chirurgical a fost selectat individual și a depins de factorii decesivi de risc stabiliți anterior (tabelul 4.5).

Tabelul 4.5 Metodele de tratament administrate pacientelor cu CGM și DZ tip 2

Lotul pacientelor	Metodele de tratamentul neoadjuvant			
	PCHT	RT	PCHT+RT	chirurgical

Lotul I (n=107)	55 (51,40%)	6 (5,60%)	8 (7,47%)	38 (33,51%)
Lotul II (n=139)	96 (69,06%)	7 (5,03%)	7 (5,03%)	29 (20,86%)
Valoarea p	<0,01	>0,05	>0,05	<0,05

În așa fel, *tratament polichimioterapic* neoadjuvant au suportat mai multe paciente nondiabetice - 69,06% și doar 51,40% paciente care sufereau și de DZ (p <0,01), fapt care demonstrează restricția tratamentului specific medicamentos din cauza prezenței diabetului și consecințele acestuia.

Tratamentul radioterapic, tratament cu acțiune locală, care practic nu agravează considerabil evoluția DZ, a fost administrat egal în ambele loturi - în 5,60% și 5,03% cazuri. Asocierea tratamentului polichimioterapic și radioterapic preoperator s-a efectuat aproximativ la același număr de paciente din ambele loturi - 7,47% și, respectiv, 5,03%.

Metoda chirurgicală, ca prima etapă de tratament specific, a fost utilizată semnificativ mai frecvent la pacientele diabetice (33,51%), față de pacientele numai cu cancer mamar (20,86%), (p<0,05). Este necesar de menționat, că diferența de 13 % dintre loturi a fost cauzată de prezența DZ și a complicațiilor ireversibile ale acestuia. Pacientele cu CGM și DZ au suportat tratament chirurgical în volum minimalizat din cauza funcțiilor organice compromise: rezecție sectorală simplă – în 1,87 % cazuri, față de doar 0,72% - în lotul celor fără diabet (p<0,01). Intervenții chirurgicale organomenajante au suportat mai multe paciente din lotul I - 13,08%, față de 9,35% - în lotul II (p<0,05). Mastectomii de tip Pirogov au fost efectuate, respectiv, în 14,95% și 12,23% cazuri (p<0,05), e necesar de menționat, că volumul tratamentului chirurgical a fost minimalizat nu doar din cauza diabetului zaharat, dar și a altor patologii concomitente depistate și la pacientele fără diabet. Majoritatea pacientelor din ambele loturi (69,16 % și 76,98% cazuri) au suportat mastectomii radicale tip Madden, cu diferență semnificativă pentru lotul II (tabelul 4.6) .

Tabelul 4.6 **Repartizarea pacientelor în dependență de volumului tratamentului chirurgical**

Lotul pacientelor	**rezecția sectorală simplă**	**operație organomenajantă**	**Mastectomie**		
			Pirogov	**Madden**	**Halsted**
Lotul I (n=107)	1,87%	13,08%	14,95%	69,16%	0,93%
Lotul II (n=139)	0,72%	9,35%	12,23%	76,98%	0,72%
P	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05

În așa fel, putem constata o minimalizare a tratamentului chirurgical la pacientele cu GCM și DZ, condiționat de riscul anestetico-chirurgical major. Este cunoscut faptul, că atât mastectomiile radicale de diferite tipuri, cât și operațiile organomenajante sunt însoțite de limfodisecție a tuturor nivelelor ganglionare axilare, ce provoacă postoperator limforee de diferită durată. La pacientele cu CGM asociat cu DZ tip 2 limforeia prolongată în perioada postoperatorie frecvent condiționează dezvoltarea complicațiilor septice, cu vindecarea precară a plăgilor, cu utilizarea medicamentelor costisitoare. Complicațiile survenite nu doar tergiversează tratamentul adjuvant (polichimioterapic și/sau radioterapic) în termenii optimali, dar și prezintă dezavantaj socio-economic considerabil.

Determinarea nivelului glicemic în limfa din plăgile postmastectomice la pacientele lotului de studiu

Este cunoscut faptul, că limfa circulă prin vasele limfatice, precum şi în spaţiile intercelulare, realizând schimbul de substanţe între sânge şi ţesuturi și are drept sarcină transportul lipidelor şi al moleculelor liposolubile în sânge. Componența calitativă și cantitativă a limfei la pacientele cu CGM influiențează starea generală a organismului, regenerarea plăgii postoperatorii, şi chiar generalizarea prin cale limfogenă a procesului malign. Reamintim, că la

82 paciente (51 paciente cu CGM şi DZ tip 2 şi 31 - cu cancer mamar fără DZ tip 2) s-a determinat nivelul glicemiei atât în plasmă sangvină, cât şi în limfa din plăgile postoperatorii. În funcţie de tratamentul administrat pentru DZ am divizat pacientele în următoarele grupuri:

- 1. Tratament cu insulină (17 paciente);
- 2. Tratament cu metformină (17 paciente);
- 3. Lipsa tratamentului medicamentos specific (17 paciente);

Grupurile au fost omogenizate conform răspândirii proceselor maligne (st. II B) şi volumului intervenţiilor chirurgicale. S-a apreciat nivelul glicemiei în serul sangvin şi conţinutul limfatic al plăgii la a 7- 10 zi postoperator. Pacientele cu CGM şi DZ tip 2 au prezentat indici majoraţi ai nivelului glucozei atât în plasma sangvină , cât şi în limfa din plăgile postmastectomice - 9,8±0,02 şi 9,6±0,07 mmol/l, iar cele nondiabetice au avut valori în limitele normei - 5,8±0,01 şi 6,0±0,04 mmol/l (p_{I-II} <0,01), (figura 4.2).

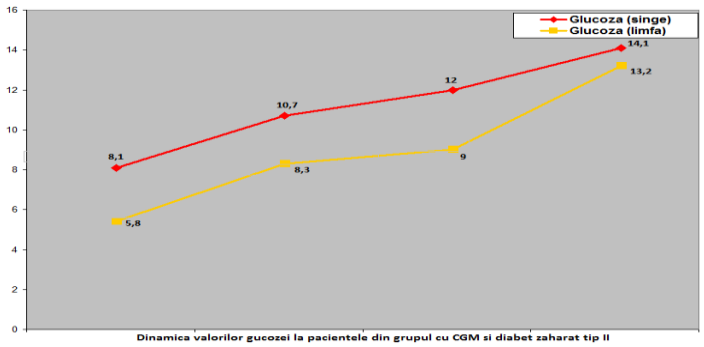


Figura 4.2 Corelarea nivelului glicemiei în plasma sangvină şi limfă.

Pâna nu de mult, cu scopul normalizării nivelului de glicemie la pacientele cu DZ tip 2 necomplicat în perioada pre-şi postoperatorie precoce era recomandată terapia insulinică în doze uzuale în regim prescurtat. Actualmente, schemele contemporane de tratament al DZ tip 2 presupun utilizarea *clorhidratului de metformină*, care reduce nivelul glucozei cu 20% şi cel al hemoglobinei glicozate - cu 1,5%. Dacă analizăm nivelul de glicemie al pacientelor cu diabet zaharat în dependenţă de tipul de medicaţie hipoglicemică, atunci cele tratate cu metformină au prezentat cifre în jurul valorilor normale - 7,6±0,04 mmol/l şi 7,7±0,05 mmol/l, iar cele tratate cu insulină au prezentat valori puţin mai înalte - 8,5±0,04 mmol/l şi 9,0±0,02 mmol/l (p_{1-2}<0,05). Pacientele cu DZ, care nu au primit tratament specific (sau au corijat valorile glicemiei prin fitoterapie şi regim dietetic) au prezentat indici glicemici mai înalţi - 10,2±0,03 mmol/l şi 13,2±0,03 mmol/l (p_{1-3}<0,05 şi p_{2-3}<0,01).

Aşadar, putem constata, că la pacientele investigate nivelul de glicemie în plasma sangvină e direct proporţional cu cel al glucozei din limfa plăgilor postoperatorii.

Limforeia abundentă este o problemă comună pentru toate pacientele cu cancer mamare, tratate chirugical prin pierderea substanţelor biologice ale organismului, cicatrizarea precară a plagilor, perioada postoperatorie îndelungată şi amânarea tratamentului specific.

Am considerat necesar de a studia durata şi cantitatea limfei în perioada postoperatorie la pacientele investigate. În aşa mod, pacientele cu CGM şi DZ tip 2 au prezentat o diferenţă semnificativ veridică în cantitatea sumară a limfei pierdute în perioada postoperatorie, faţă de pacientele fără diabet (2553,8 ± 53,6 ml vs 2147,1 ± 53,2 ml), (p<0,05). Pacientele cu CGM şi DZ tip 2 fără tratament medicamentos antidiabetic (dietoterapie, fitopreparate etc.) au pierdut în 28 ± 5,7 zile în total 2729 ± 55,6 ml limfă (p_{1-3}<0,05). Eroarea standardă a calculelor pentru durata limforeii a fost cuprinsă în intervalul 2,03 - 2,4%, ce permite de a considera statistic

semnificative datele obținute. Reprezentarea grafică a duratei limforeii și cantitatea sumară a limfei este reprezentată în figura 4.3

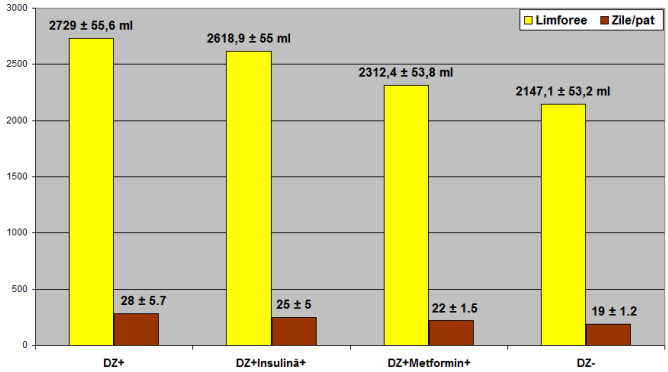
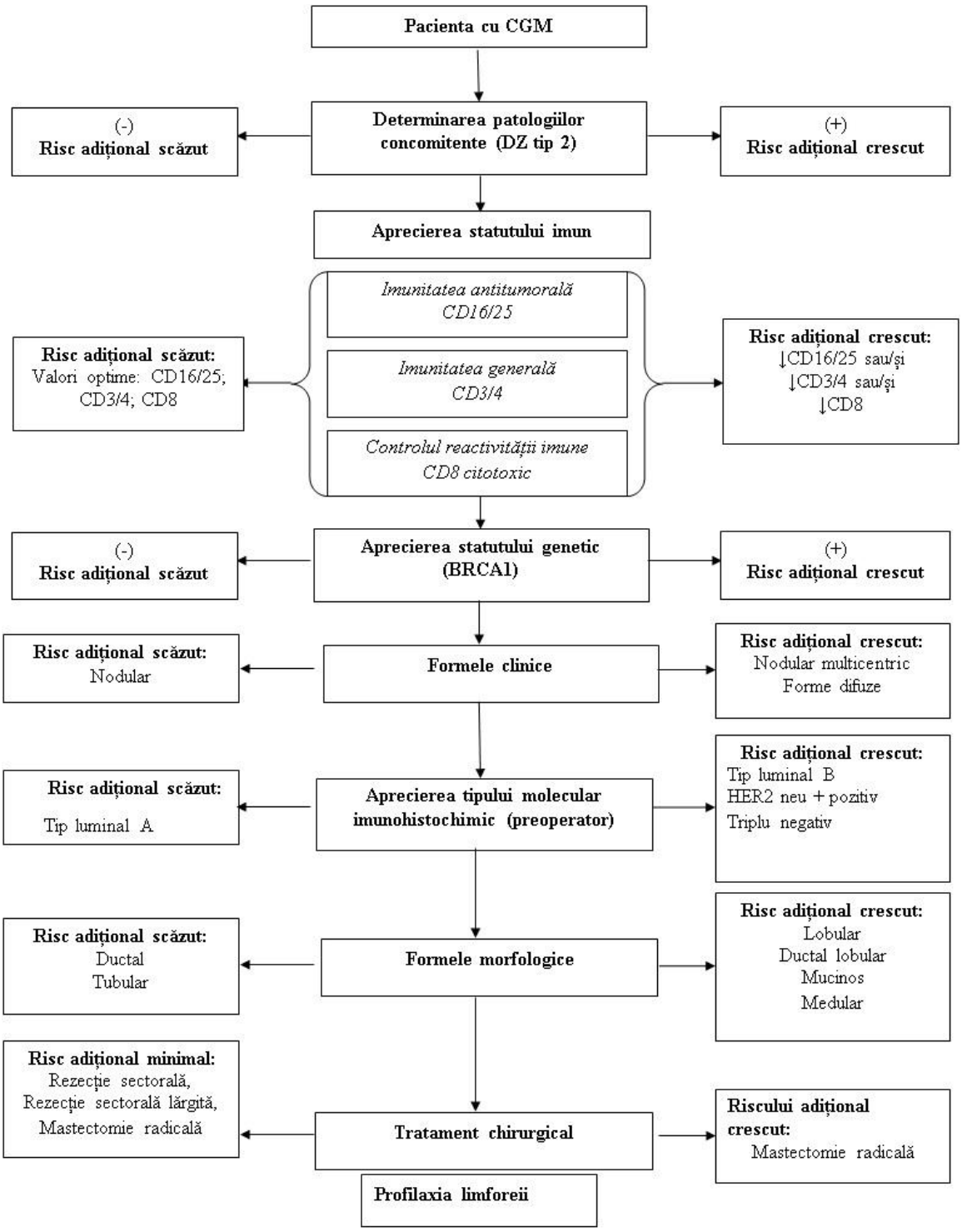


Figura 4.3 Durata limforeii și cantitatea sumară a limfei la pacientele cu CGM și DZ tip 2.

Așadar, pacientele cu CGM și DZ tip 2 tratate cu metformină au prezentat o micșorare considerabilă a cantității sumare a limfei și a duratei de spitalizăre (de la 28 ± 5,7 la 22 ± 1,5 zile/pat postoperator) cu un debut intempestiv al tratamentului adjuvant cu beneficii economice considerabile. Deoarece tratamentului chirurgical al pacientelor cu CGM și DZ tip 2 rămâne a fi o problemă constantă, care prezintă o serie de particularități ce pot complică perioada perioperatorie, ne-am propus ca scop selectarea volumul optim al intervenției chirurgicale în fiecare caz în parte, ținând cont de particularitățile menționate în capitolele anterioare. În baza calculării prin F-ratio a ponderii factorilor predictivi ai prognosticului evolutiv al neoplaziilor mamare la pacientele cu DZ am stabilit volumului optim al intervențiilor chirurgicale cu elaborarea algoritmului factorial.

ALGORITMUL DE SELECTARE AL VOLUMULUI OPTIM CHIRURGICAL



CONCLUZII GENERALE

1. Pacientele cu CGM și DZ se caracterizează prin imunodepresie vădită atât antitumorală CD16 (lotul I 14,3±0,72 vs lotul II 21,2±0,56), ($p<0,01$) , cât și generală, exprimată prin reducerea semnificativă a funcției helper CD4 (lotul I 27,4±1,8 vs lotul II 35,7±0,15), ($p<0,01$) și a celulelor regulatoare a reacțiilor imune CD8 (lotul I 14,3±0,2 vs lotul II 19,3±0,3), ($p <0,01$).

2. Prezența mutației majore 5382insC în gena BRCA 1 la paciente cu CGM și DZ tip 2 a fost depistată de 2 ori mai frecvent, decât la cele fără DZ (21,87% vs 11,36 %) ($p<0,01$). Mai mult ca atât, s-a stabilit o corelație semnificativă a acesteia cu imunodeficiența celulară a

pacientor lotului de studiu: CD4 (r=0,92, p<0,001), CD8 (r=0,95, p<0,001) și CD 16 (r=0,99, p<0,001). Așadar, totalitatea dereglărilor imune caracteristice DZ pot avea rol declanșator în veriga imunopatogenetică, cu inducerea mutației la nivelul genei BRCA1 la pacientele cu cancer mamar.

3. Pacientele cu CGM și DZ au prezentat unele particularități clinice în comparație cu cele fără diabet: frecvența mai înaltă a formelor difuze (potențial mai agresive) – 10,28% vs 5,04% (p<0,01), a creșterii multicentrice a tumorilor - 9,35%, vs 4,32% (p<0,01**)** și a unui grad mai avansat de extindere loco-regională - 24,3% vs 10,7% (p<0,01), cu un indice înalt de corelație a mutației inaltpenetrante în gena BRCA1 (r=0,95; r= 0,98 și r= 0,96) (p<0,01).

4. La pacientele lotul I s-au depistat unele particularitățile morfologice ale tumorilor maligne, față de cele din lotul II: frecvența mai înaltă a carcinomului lobular (12,14% vs 5,03%), (p<0,01), a carcinomului mixt - ductal și lobular (10,28% vs 4,31%), (p<0,01) și a formelor rare: medulare (4,67% vs 2,88%), (p<0,05) și mucinoase (6,54% 2,88%) (p<0,01). Pacientele cu diabet au prezentat patomorfoză mai pronunțată (gr. IV), față de cele fără diabet (7,47% vs 4,31%), (p<0,01). Indicele corelativ cu gena BRCA1 5382insC prezintă valori inalte și semnificative (r=0,93-0,97), (p<0,01).

5. La pacientele cu CGM și DZ tip 2 predomină formele imunohistochimice cu un grad de agresivitate sporit: subtipurile moleculare triplu negativ (21,49%) și Her2/neu pozitiv (25,23%), față de cele fără diabet (11,51% și, respectiv, 16,54%).
   Analiza corelațională dintre profilului imunohistochimic cu prezența mutației în gena BRCA1 denotă o corelare semnificativă cu indicii r=0,79-0,82 (p<0,01).

6. Factorii decisivi de risc în evoluția cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat sunt: subtipurile imunohistochimice triplu negativ, HER2/ neu pozitiv, prezența mutației 5382 insC, imunitatea antitumorală CD16/25, și celulară: CD8, CD3/4, formele clinice difuze, creșterea multicentrică a tumorilor, carcinomul lobular, mucinos și medular. În baza factorilor decesivi de risc am stabilit criteriile de apreciere a volumului optim al intervențiilor chirurgicale cu elaborarea unui algoritm. Pacientelor cu criterii de prognostic nefavorabil se recomandă imperativ efectuarea mastectomiilor radicale în defavoarea tratamentului organomenajant sau reconstructiv.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Tinând cont de faptul, că diabetul zaharat tip 2 prezintă un potențial factor de risc în dezvoltarea cancerului mamar, se recomandă de a spori vigilența oncologică a pacientelor ce suferă de diabet zaharat, prin efectuarea regulată a investigațiilor complexe cu includerea tuturor metodelor specifice de diagnostic (clinică, imagistică, genetică, imunologică) pentru depistarea precoce a cancerului.
2. Reeșind din faptul, că frecvența mutației majore 5382insC în gena BRCA 1 la pacientele cu CGM și DZ tip 2 prezintă valori duble față de cele nondiabetice, considerăm oportună determinarea obligatorie a acestei mutații pentru stabilirea unui tratament specific individualizat. Recomandăm această investigație și rudelor de gradul I-II a acestor paciente.

1. Pacientelor cu CGM și Dz tip 2 se recomandă aprecierea subtipurilor imunohistochmice a tumorilor maligne prin trepan biopsie pentru evitarea administrării unui tratament neoadjuvant nejustificat, ținând cont de o eventuală decompensare a diabetului preexistent și frecvența înaltă a complicațiilor acestuia.
2. Pacientele cu CGM și DZ cu formele difuze ale maladiei, prezența mutației în gena BRCA 1, imunodepresie antitumorală vădită, forme morfologice rare, creșterea multicentrică a tumorilor, subtipuri imunohistochimice triplu negative și HER 2 /neu pozitive, prezintă o evoluție nefavorabilă a procesului neoplazic cu prognostic rezervat și necesită din start tratament specific mai agresiv și dispensarizarea minuțioasă a acestora.
3. Recomandăm de a selecta volumul optim al intervențiilor chirurgicale în baza factorilor decisivi de risc stabiliți (imuno-genetici, clinico-morfologici și imunohistochimici), conform criteriilor elaborate în algoritm. Pacientelor cu criterii de prognostic nefavorabil se va recomanda imperativ efectuarea mastectomiilor radicale în defavoarea tratamentului organomenajant sau reconstructiv.
4. Cu scopul profilaxiei limforeii abundente și prolongate la pacientele cu CGM și DZ tip 2 compensat și subcompensat se recomandă de a utiliza tratamentul cu clorhidrat de metformină în perioada postoperatorie, în așa mod se va preveni tergiversarea tratamentului adjuvant și micșorarea duratei de spitalizare.

BIBLIOGRAFIA

1. Adami HO et al. Cancer risk in patients with diabetes mellitus. Cancer Causes/Control 2012 (2): 307–314
2. American Diabetic Association Diagnosis and classification of diabetes mellitus Diabetes Care 2015 Suppl 1(35):S64–S71.
3. Baron JA et all. 2011 Metabolic disorders and breast cancer risk (United States). Cancer Causes/Control
4. Biroul Național de Statistică, Ocrotirea sănătății, Morbiditatea populatiei la 100 000 locuitori pe Raioane/Regiuni, Clase de boli, Ani si Indicatori, http://statbank.stat.md/, 2016.
5. Bordeleau L1 et al. Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group Diabetes and breast cancer among women with BRCA1 and BRCA2 mutations. Cancer. 2011 (4): 1356-1359
6. Cancer Registru național, IMSP Institutul Oncologic, accesat 21 noiebrie 2016.
7. Cancer trends progress report. Breast cancer screening. Bethesda, MD: National Cancer Institute, National Institutes of Health; 2016 (2): 1216-1221
8. Carmichael AT Obesity and breast cancer: a review of the literature. Breast cancer 2012, p 85–92.
9. Chodick G et al. Diabetes and risk of incident cancer: a large population-based cohort study in Israel, 2013 Cancer Cause/Control (21): 879–887
10. Draznin B Mechanism of the mitogenic influence of hyperinsulinemia. Diabetology and Metabolic Syndrome 2011 (1): 1310.
11. Gallagher EJ, LeRoith D The proliferating role of insulin and insulin-like growth factors in cancer. Trends in Endocrinology and Metabolism 2012, p. 610–618.
12. Gallimore AM, Simon AK. Positive and negative influences of regulatory T cells on tumor immunity. In Oncogene, 2012 (2) :5886-5893
13. Giovannucci E et al. Diabetes and cancer: a consensus report. Diabetes Care 2014; (33):1674-85.

14. IDF Diabetes Atlas 2016. 7th ed. Brussels, Belgium, International Diabetes Federation. Available from www.diabetesatlas.org. Accessed 20 noiembrie 2016
15. Lawlor DA, Smith GD, Ebrahim S 2014 Hyperinsulinaemia and increased risk of breast cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study. Cancer Causes/Control pp.267–275.
16. Liao S et al. Association between diabetes mellitus and breast cancer risk: a meta-analysis of the literature. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 2011, (7) 1061–1065.
17. Lips E. H et al., "Breast cancer subtyping by immunohistochemistry and histological grade outperforms breast cancer intrinsic subtypes in predicting neoadjuvant chemotherapy response," Breast Cancer Research and Treatment, 2013, vol. 140, no. 1, pp. 63–71

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

1. Lista articolelor ştiinţifice apărute în reviste de specialitate din ţară:

1. **Tcaciuc Diana.** Corelaţia indicilor imunităţii celulare şi ale genei BRCA1 5382 ins C la pacientele cu cancer mamar şi diabet zaharat tip II. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale .3(48)/2015. P.189-195.
2. **Tcaciuc Diana**, Sofroni Larisa Analiza comparativă ale expresiei genei BRCA1 la pacientele cu cancer mamar şi diabet zaharat asociat. In: Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale № 4 (40) 2013. ISSN 1857-0011. Pag. 156-160.
3. Sofroni Larisa, **Tcaciuc Diana,** Badan Andrei, Jovmir Vasile, Machidon Vitalie, Cudinaelena, Cotruţă Alexandru, Botnariuc Natalia, Bacalam Lilia. Conduita perioperatorie la pacientele cu cancer al glandei mamare şi Diabet Zaharat tip II. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale .3(48)/2015. P.178-182
4. Machidon Vitalie, Sofroni Larisa, Jovmir Vasile, **Diana Tcaciuc**, Stanislav Anastasia. Recurenţa cancerului mamar in stadiul II. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale .3(48)/2015. P.195-197.
5. Jovmir V.; Cernîi A.; Osadcii Diana; **Tcaciuc Diana**. Diagnosticul imunocitochimic a statutului HER2/neu prin biopsia aspirativă cu ac fin la pacientele cu cancer mamar (în baza proiectului de transfer tehnologic 133T). In: Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale № 4 (40) 2013. ISSN 1857-0011. Pag. 123-126.
6. Sofroni L., Jovmir V., **Tcaciuc D.,** Stratan, V., Pihut P., Machidon V., Cudina E., Cotruţă A., Botnariuc N., Chemencedji I., Ghervas V. Repere imuno-hormonale, morfologice şi imunochistochimice în optimizarea tratamentului cancerului glandei mamare la pacientele cu diabet zaharat. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei, Ştiinţe medicale. 2014, (4) 45, 321- 326. ISSN 9877.
7. Sofroni Larisa, Stratan Valentina, **Tcaciuc Diana.** Imunodepresia – potenţial factor de risc in cancerul primar – multiplu al organelor hormonodependente. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale .3(48)/2015. P.182-186
8. **Diana Tcaciuc,** Eugen Ancuţa Particularităţile clinico-morfopatologice ale pacientelor cu cancer mamar şi diabet zaharat tip 2 In: Info-med. Nr. 28(2), 2016.pag. 108-117. ISSN 1810-3936.
9. **D.Tcaciuc,** L. Sofroni Diabetul zaharat la pacientele cu cancer mamar: particularităţi de conduită şi tratament Actualităţi în diagnosticul şi tratamentul contemporan al tumorilor organelor reproducrive la femei. Chişinău, 2008, pag. 197-200.

10. **D.Tcaciuc,** L. Sofroni, Tentative de profilaxie şi tratament al limforeii în cadrul tratamenrtului chirurgical al cancerului glandei mamare Actualităţi în diagnosticul şi tratamentul contemporan al tumorilor organelor reproducrive la femei. Chişinău, 2008, pag. 167-170.

11. **Tcaciuc Diana**, Sofroni Larisa. Aspecte evolutive ale cancerului glandelor mamare la pacientele cu diabet zaharat tip 2 (Reviul literaturii). In: Buletinul informaţional al Societăţii Ştiinţifico-Practice din Republica Moldova. nr. 2 (2012), Chişinău, 2013, ISSN 1857-4572. pag.191-195.

12. Stratan V., Sofroni L., **Tcaciuc D.,** Jovmir V., Pihut P., Machidon V., Cudina E., Cotruță A., Botnariuc N., Nicorici A. Analiza comparativă a homeostaziei hormonale în serul sangvin şi limfa pacientelor cu cancer mamar. In: Buletinul informaţional al Societăţii Ştiinţifico-Practice din Republica Moldova. nr. 2 (2012), Chişinău, 2013, ISSN 1857-4572.pag. 71-75.

LISTA COMUNICĂRILOR PREZENTATE LA MANIFESTĂRI ŞTIINŢIFICE, PUBLICATE CA REZUMAT (1-3 PAGINI):

13. Софрони Л.И., Годорожа Н.М., **Ткачук Д.Б.,** Самотыя Е.Е, Токан В., Халаку А., Маланко Л. Клинические особенности рака молочной железы с мутацией 15382 insC BRCA1. XII съезд онкологов Украины, 20-22 сентября Судак Крым; Украина, 20-22 сентебря 2011, стр.82.

14. Sofroni Larisa., **Tcaciuc Diana.,** Stratan Valentina., Samotiya Eugenia., Tocan V. Immunological indices at patient with breast cancer associated with type 2 diabetes mellitus. In: Congresul Bienal de Cancer Mamar - Editia 2012. Cancerul mamar - de la teorie la practică. Băile Felix, Oradea, Romania, 16-19 mai 2012, p.17-18.

15. Sofroni Larisa., **Tcaciuc Diana.,** Stratan V-na., Samotiya Eugenia., The particularity of hormonal homeostaze at patients with breast cancer associated with type 2 diabetes mellitus. In: Congresul Bienal de Cancer Mamar - Editia 2012. Cancerul mamar - de la teorie la practică. Băile Felix, Oradea, Romania.16-19 mai 2012, p. 48-49.

16. **Tcaciuc Diana.,** Sofroni Larisa., Holacu Ala. Clinical aspects of breast cancer with BRCA1 mutation 15382 insC. In: Congresul Bienal de Cancer Mamar - Editia 2012. Cancerul mamar - de la teorie la practică. Băile Felix, Oradea Romania, 16-19 mai 2012, p. 24-25.

17. **Tcaciuc Diana**., Sofroni Larisa., Stratan Valentina., Halacu Ala Clinical aspects of breast cancer with BCR1 mutation 15382INS associated with diabets mellitus tip2. In: Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași. Zilele Oncologiei Ieșene, ediția a VIII-a. Volum de rezumate. Iași, 22-24 noiembrie 2012, p.187-188.

18. **Tcaciuc Diana.,** Sofroni Larisa Analiză comparativă a expresiei genei BRCA1 la pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2**.** In: Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 21-23 noiembrie 2013. pag.185.

19. Natalia Botnariuc, Larisa Sofroni, Vasile Jovmir, **Diana Tcaciuc,** Valentina Stratan, Petr Pihut, Elena Cudina, Alexandru Cotruta, Vitalii Machidon Immune reactivity in patients with breast cancer associated with type 2 diabetes mellitus In: The Breast, (ABC2) Volume 22, Supplement 3, 1 November 2013, Page 60.

20. Machidon V., Jovmir V., Sofroni Larisa, **Tcaciuc Diana,** Badan A., Stadiul IIA/IIB - în cancerul mamar metastazant. In: Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 21-23 noiembrie 2013. pag.133.

21. **Tcaciuc Diana**., Sofroni Larisa., Stratan Valentina., Pihut P., Machidon V., Cudina Elena., Cotruta A., Botnariuc Natalia., Nicorici Aliona. Immunogenetic status in breast cancer (BC) and diabetes mellitus (DM) type 2. In: Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 21-23 noiembrie 2013. pag.188-189.
22. **Tcaciuc Diana**., Sofroni Larisa., Stratan Valentina., Pihut P., Machidon V., Cudina Elena., Cotruta A.; Botnariuc Natalia., Nicorici Aliona. Statusul imunogenetic la pacientele cu cancer al glandei mamare (CGM) și diabet zaharat (DZ) **.** In: Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 21-23 noiembrie 2013. pag.187-188.
23. **Tcaciuc Diana.,** Sofroni Larisa. Comparative analysis of gene expression brca1 mutation 15382ins in breast cancer associated with diabetes mellitus tip 2. In: Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 21-23 noiembrie 2013. pag.186.
24. Софрони Лариса., Жовмир В., **Ткачук Диана.,** Макидон В., Пихут П., Кудина Елена., Ботнарюк Наталия., Котруцэ А., Стратан Валентина., Никорич Алена. Гормональный гомеостаз в крови и лимфе у больных раком молочной железы In: Вопросы Онкологии. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов. Ст. Петербург, приложение №3, 11-13 сентября 2013, Том 59, стр. 330-331.
25. **Ткачук Диана.,** Софрони Лариса Эпидемиологические особенности рака молочной железы (РМЖ) с мутацией 15 insC BRCA 1. In: Вопросы Онкологии. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов. Ст. Петербург, приложение №3, 11-13 сентября 2013,Том 59, стр. 337.
26. Ботнарюк Н., Мереуцэ И., Софрони Л., Жовмир В., Кябуру С., Кудина Е., Пихут П., Кучиеру А., Кучиеру В., Котруцэ А., Рошкулец В., Одобеску О., **Ткачук Д**., Макидон В., Киструга Л. Характеристика иммунологического статуса при раке молочной железы I и IIA стадии. // Евразийский онкологический журнал №3(03), 2014. Тезисы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии, 16-18 сентября Казань (Республика Татарстан), 2014г. С.247.
27. **Ткачук Д.Б**., Стратан В.Г., Софрони Л.И., Особенности клеточного иммунного статуса у больных раком молочной железы, ассоциированным с сахарным диабетом **2** типа. // Евразийский онкологический журнал №3(03), 2014. Тезисы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии, 16-18 сентября Казань (Республика Татарстан), 2014г. С.319.
28. **Ткачук Д.Б.,** Софрони Л.И. Особенности клинической эволюции генетически обусловленного рака молочной железы. // Евразийский онкологический журнал №3(03), 2014. Тезисы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии, 16-18 сентября Казань (Республика Татарстан), 2014г. С.320.
29. Machidon V., Sofroni Larisa, **Tcaciuc Diana**, Stanislav Anastasia Modificari morfopatologice în cancerul mamar metastazant. In: Conferinţele Institutului Regional de Oncologie Iaşi, 27-30 noiembrie 2014. p. 127.
30. Sofroni Larisa, **Tcaciuc Diana,** Jovmir V., Machidon V., Cudina Elena, Cotruta A., Botnariuc Natalia, Chemencedji Inga, Ghervas V., Biomarkerii tumorali - rees, re pg si her2/neu- la pacientele cu cancer mamar şi diabet zaharat tip 2. In: Conferinţele Institutului Regional de Oncologie Iaşi, 27-30 noiembrie 2014. p. 168-169
31. Sofroni Larisa, **Tcaciuc Diana**, Jovmir V., Machidon V., Cudina Elena, Cotruta A., Botnariuc Natalia, Chemencedji Inga, Ghervas. V., Biomarkers Er, Pr and HER2/neu in patients with breast cancer and diabetes mellitus type 2. In: Conferinţele Institutului Regional de Oncologie Iaşi, 27-30 noiembrie 2014. p. 169-170.

32. Machidon Vitalie, Sofroni Larisa, Jovmir Vasile, **Tcaciuc Diana.** Extinderea locoregională –model reprezentativ de agresivitate în cancerul mamar. Rezumatele şi Lucrări în Extenso ale Congresului iv naţional de oncologie, 8-9 Octombrie 2015. Buletinul Societăţii Ştiinţifico-Practice a Oncologilor din Republica Moldova. Nr. 1 (3)2015. P.71.
33. Machidon Vitalie, Sofroni Larisa, Jovmir Vasile, **Tcaciuc Diana ,** Jucov Victor, Gazibar Valeria, Lembas Alexandru. Valoarea modificărilor tumorale în cancerul mamar metastazant. Rezumatele şi Lucrări în Extenso ale Congresului iv naţional de oncologie, 8-9 Octombrie 2015. Buletinul Societăţii Ştiinţifico-Practice a Oncologilor din Republica Moldova. Nr. 1 (3)2015. P. 72-73.
34. **Ткачук Д.Б.,** Софрони Л.И., Македон В.А., Жовмир В.К., Котруцэ А.И., Кудина Е.Н., Ботнарюк Н.Е. Иммуногистохимические особенности экспрессии ER, PR, и Her2/neu у больных раком молочной железы при сопутствующем сахарном диабете 2-го типа. Евразийский онкологический журнал, нр. 2 (4), 2016, стр. 314
35. **Ткачук Д.Б.,** Софрони Л.И., Стратан В.Г.,Жовмир В.К., Македон В.А., Котруцэ А.И.,Кудина Е.Н., Ботнарюк Н.Е., Бакалым Л.Г. Характеристика иммунологического статуса пациентов с раком молочной железы при сопутствующем сахарном диабете 2-го типа. Евразийский онкологический журнал, нр. 2 (4), 2016 стр. 314.
36. Котруцэ А.И., Софрони Л.И., Кудина Е.Н., Ботнарюк Н.Е., Кябуру С.В., **Ткачук Д.Б**. Иммунный статус у больных раком молочной железы в менопаузе. Евразийский онкологический журнал, нр. 2 (4), 2016 284.

LISTA ABREVIERILOR

ANOVA	Analiza Variațiilor dintre grupurile de comparare
BRCA1, 2	Breast Cancer 1,2 Gene, gene 1, 2 ale cancerului mamar
CCD	Centrul Consultativ Diagnostic
CD	Clastere de Diferențiere a celulelor limfocitare
CEA	Antigen Carcino-Embrionar
CGM	cancerul glandei mamare
CMF	Ciclofosfan-Metotrexat-Fluorurocil
DS	deviaţia medie standard
DZ tip 2	diabet zaharat tip 2
ER+/-	estrogen-receptor-positiv/negativ
ES	eroare standard
FAC	Fluoruracil-Adriomicin-Ciclofosfan
gll	ganglioni limfatici
HER-2/neu,	human epidermal growth factor receptor 2.
IDF	Federaţia Internaţională de Diabet
IGF	factorul insulinic de creştere
IGF-1	factorul de creştere insulin-like 1
IL	interleuchina
IMSP IO	Instituția Medico-Sanitară Publică Institutul Oncologic
IR	Insulinorezistența
LTC	limfocitele T citotoxice
LTH	limfocitelor T helperI
LTS	limfocitelor T supresori
NK	limfocite killer naturali

OMS	Organizația Mondială a Sănătății
PR+/-	progesterone-receptor-positiv/negativ

ADNOTARE

Tcaciuc Diana

” Particularităţi imuno-genetice şi clinico-morfologice ale cancerului glandei mamare la pacientele cu diabet zaharat tip 2”

Teză de doctor în medicină

Chişinău 2016.

Structura tezei: Introducere, 4 capitole de cercetare, concluzii şi recomandări practice, indice bibliografic surse. Teza este expusă pe 150 pagini de text electronic, materialul icinografic conţine 28 tabele, 38 figuri şi 7 anexe. Rezultatele obținute au fost raportate în cadrul a 36 publicații științifice.

Cuvinte-cheie: Cancer al glandei mamare, diabet zaharat tip 2, limfocite T, BRCA1 5382insC, carcinom triplu negativ, Her2/neu pozitiv, volumul optim chirurgical.

Domeniul de studiu: medicină, oncologie.

Scopul: Determinarea particularităţilor imuno-genetice şi clinico-morfologice la pacientele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 cu elaborarea algoritmului de apreciere al volumului optim al intervenţiilor chirurgicale.

Obiectivele tezei:

- Studierea particularităţilor statusului imun specific al pacientelor cu CGM şi DZ tip 2;
- Determinarea prezenței mutației 5382insC în gena BRCA 1 și estimarea corelaţiei acesteia cu modificările imune la pacientele din lotul de studiu;
- Evaluarea interdependenţei formelor clinico-morfologice ale tumorilor maligne cu prezenţa mutaţiei majore a genei BRCA 1 la pacientele cu CGM şi DZ tip 2;
- Studierea particularităților imuno-histochimice și corelația cu prezența mutației în gena BRCA 1 5382insC la pacientele lotului de studiu;
- Selectarea factorilor decesivi de risc în evoluția CGM la pacientele cu DZ cu elaborarea algoritmului de determinare al volumului optim al intervenţiilor chirurgicale la aceste paciente.

Metodologia cercetării: Studiul constă din 2 etape: descriptivă și analitică-neexperimentală de tip „caz- control”, obiectul de studiu fiind pacienta cu diagnosticul de CGM și DZ tip 2, confirmat prin metode generale și speciale.

Noutatea și originalitatea științifică: Pentru prima dată s-a realizat un studiu complex cu determinarea modificărilor imuno-genetice şi a particularităţilor clinico-morfologice ale pacientelor cu CGM şi DZ tip 2. S-a studiat corelația între prezența mutaţiei majore a genei BRCA1 și influenţa determinismului imuno-genetic asupra formelor clinico-morfologice și tipurilor imuno-histochimice ale tumorilor maligne la pacientele cu CGM și DZ tip 2.

Problema științifică soluționată: Studiul constituie un aport valoros în completarea cercetărilor în domeniul mamologiei oncologice vizând un grup vast de paciente, care au

suportat două maladii severe asociate – CGM şi DZ tip 2. S-au selectat şi ierarhizat factorii decesivi de risc în evoluția CGM la pacientele cu DZ tip 2, care au stat la baza individualizării tratamentului specific şi elaborării algoritmului de determinare al volumului optim al intervenţiilor chirurgicale la aceste paciente.

Semnificația teoretică şi valoarea aplicativă a lucrării: Investigația completează studiile universale în domeniul mamologiei oncologice şi diabetologiei, ce ţin de particularitățile imuno-genetice şi clinico-morfologice ale pacientelor cu CGM şi DZ tip 2, care permit personalizarea tacticii de tratament a acestor paciente. În baza evaluării datelor obținute în cadrul cercetării sunt introduse în practica cotidiană principiile de conduită perioperatorie a pacientelor cu CGM şi DZ tip 2. Sunt minimalizate indicațiile către micşorarea volumului intervenţiilor chirurgicale, deseori neargumentate, datorită complicaţiilor cardio-, nefro -şi neurotoxice frecvent depistate la pacientele cu DZ.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice: Valoarea ştiinţifică a rezultatelor studiului a fost aprobată şi implementată atât în IMSP Institutul Oncologic: secţiile de mamologie, de chimioterapie şi radioterapie, cabinetele de profil ale CCD, cât şi de către oncologii raionali şi medicii de familie

АННОТАЦИЯ

Диана Ткачук

”Иммуно-генетические и клинико-морфологические аспекты рака молочной железы у пациенток с сахарным диабетом 2 типа”

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Кишинёв 2016.

Структура диссертации: работа представлена на 150 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, рекомендаций, резюме на румынском, русском и английском языках. Библиографический указатель содержит 178 источников литературы. Диссертация иллюстрирована 38 рисунками и 28 таблицами, содержит 7 приложения. По материалам диссертации опубликовано 36 научных работ.

Кючевые слова: рак молочной железы, сахарный диабет 2-го типа, Т лимфоциты, BRCA1 5382insC, трижды отрицательный рак, HER2/Neu положительный, оптимальный хирургический объем.

Область исследования: медицина, онкология.

Цель исследования: разработка алгоритма по определению оптимального объема хирургического вмешательства на основе оценки особенностей иммуногенетических, клинических и морфологических признаков РМЖ у пациенток с сахарным диабетом.

Задачи исследования:

• Изучение особенностей иммунного статуса пациенток с РМЖ и СД 2-го типа;

• Выявление мутации BRCA 15382insC и оценка степени ее корреляции с иммунными нарушениями у больных в исследуемой группе;

•Оценка взаимозависимости между клинико-морфологическими формами опухолей и наличием мутации BRCA1 5382insC у пациенток с РМЖ и сахарным диабетом 2-го типа;

• Исследование иммуногистохимических особенностей и наличие корреляции с мутацией BRCA1 5382insC у больных в исследованной группе;

• Выбор решающих факторов риска в эволюции РМЖ у больных СД и разработка алгоритма для определения оптимального объема хирургического вмешательства.

Методика исследования: Исследование состоит из двух этапов: аналитико-описательного и неэкспериментального, проведено по типу «случай-контроль», объектом которого являются пациентки с подтвержденным диагнозом РМЖ и СД 2 типа.

Научная новизна и оригинальность исследования: Впервые было проведено комплексное исследование иммуногенетических и морфологических признаков характерных для пациенток с РМЖ и СД 2 типа, изучена взаимосвязь между наличием мутации гена BRCA1 и детерминизмом влияния иммуногенетических детерминант на клинико-морфологические формы и иммуногистохимические типы злокачественных опухолей у данной категории больных.

Научная проблема, решенная в рамках исследования, относится к области онкомаммологии и ориентирована на большую группу пациенток, которые перенесли два тяжелых ассоциированных заболевания – РМЖ и СД 2 типа. Были выбранны главные факторы риска эволюции РМЖ у больных СД 2 типа, что позволило разработать алгоритм для выбора оптимального объема хирургического вмешательства у этих пациенток.

Теоретическая ценность работы и практическая значимость работы позволяют индивидуализировать план лечения больных РМЖ и СД 2 типа. Полученные данные, позволяют внедрять в повседневную практику разрабоpанные нами принципы периоперационного ведения больных с РМЖ и сахарным диабетом 2 типа, а так же минимизировать уменьшение объема хирургического вмешательства, зачастую неоправданного, из-за осложнений СД.

Внедрение научных результатов: полученные результаты исследования были утверждены и внедрены в отделениях маммологии, химиотерапии, лучевой терапии, в консультативных кабинетах данного профиля Онкологического Института, а так же районными онкологами и семейными врачами.

TCACIUC DIANA

PARTICULARITĂŢI IMUNO-GENETICE ŞI CLINICO-MORFOLOGICE ALE CANCERULUI MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT TIP 2

321.20 – ONCOLOGIE ŞI RADIOTERAPIE

Autoreferatul tezei de doctor ştiinţe medicale

Aprobat spre tipar: 23.11.2016

Formatul hârtiei: A 5 Hârtie ofset.

Tipar digital. Tiraj: 70 ex. Coli de tipar: 2.0 Comanda nr. 85/11 SRL ”EUROPRES” Str. Alba Iulia 75/20, tel. 069130258