

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
IMSP INSTITUTUL ONCOLOGIC

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 618.19-006.6-056.7: 616. 379-008.64(043)

TCACIUC DIANA

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

321.20 – ONCOLOGIE ȘI RADIOTERAPIE

Teza de doctor în științe medicale

Conducător științific:

LARISA SOFRONI

doctor habilitat în științe medicale,

conferențiar cercetător

(321.20 Oncologie și radioterapie)

Autor:

DIANA TCACIUC

CHIȘINĂU 2017

© Tcaciuc Diana 2017

CUPRINS.....	3
ADNOTARE (română, rusă, engleză).....	5
LISTA ABREVIERILOR.....	8
INTRODUCERE.....	9
1. VIZIUNI CONTEMPORANE ASUPRA STATUSULUI IMUNO-GENETIC ȘI CLINICO-MORFOLOGIC AL CANCERULUI MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT TIP 2	16
1.1. Mecanismele carcinogenezei neoplaziilor mamare în asociere cu diabetul zaharat tip 2.....	17
1.2. Determinantele imunologice ale cancerului mamar și a diabetului zaharat tip 2.....	25
1.3. Viziuni contemporane asupra rolului factorului ereditar al cancerului mamar asociat cu diabet zaharat tip 2.....	29
1.4. Particularitățile evoluției clinico-morfologice și de tratament ale cancerului mamar asociat cu diabet zaharat tip 2.....	32
1.5. Concluzii la capitolul 1.....	37
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE.....	38
2.1. Caracteristica generală a metodologiei cercetării și designul studiu.....	38
2.2. Metodologia de cercetare și de acumulare a datelor.....	41
2.3. Metode de procesare statistică și analiza rezultatelor obținute.....	48
2.4. Concluzii la capitolul 2.....	49
3. PARTICULARITĂȚILE IMUNO-GENETICE ÎN CANCER MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT TIP 2.....	51
3.1. Determinarea mutației 5382insC în gena BRCA1 la paciențele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2.....	51
3.2. Particularitățile statusului imun celular nespecific și corelarea factorială cu mutația 5382insC în gena BRCA1 la paciențele cu cancer mamar asociat cu diabetul zaharat..	53
3.3. Particularitățile statusului imun celular antitumoral și corelarea factorială cu mutația 5382insC în gena BRCA1 la paciențele incluse în studiu.....	65
3.4. Concluzii la capitolul 3.....	70
4. PARTICULARITĂȚI CLINICO-MORFOPATOLOGICE ALE CANCERULUI MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT TIP 2	72
4.1. Particularități de vârstă și funcția reproductivă la paciențele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2.....	72
4.2. Aprecierea parametrilor ponderali ai pacientelor incluse în studiu.....	74

4.3.	Mecanismele de control al diabetului zaharat la pacientele cu cancer mamar.....	76
4.4.	Formele clinice și răspândirea procesului malign la pacientele investigate.....	78
4.5.	Caracteristica morfopatologică și imunohistochimică a cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat asociat.....	82
4.6.	Factorii de risc în prognosticul cancerului mamar asociat cu diabet zaharat.....	82
4.7.	Aspecte de tratament chirurgical al pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat ...	91
4.8.	Concluzii la capitolul 4.....	106
	SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE.....	107
	CONCLUZII GENERALE.....	116
	RECOMANDĂRI PRACTICE.....	117
	BIBLIOGRAFIA.....	118
	ANEXE.....	130
	DECLARAȚIE PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....	147
	CURRICULUM VITAE	148

ADNOTARE

Tcaciuc Diana

"Particularități imuno-genetice și clinico-morfologice ale cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat tip 2"

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău 2017.

Structura tezei: Introducere, 4 capitole de cercetare, concluzii și recomandări practice, indice bibliografic 178 surse. Teza este expusă pe 150 de pagini de text electronic, materialul ilustrativ conține 28 tabele, 37 figuri și 5 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 particularităților imuno-genetice și clinico-morfologice la pacientele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 cu elaborarea algoritmului de apreciere al volumului optim al intervențiilor chirurgicale.

Obiectivele tezei:

- Studiarea particularităților statusul imun specific pacienților cu CGM și DZ tip 2;
- Determinarea prezenței mutației 5382insC în gena BRCA 1 și estimarea corelației acesteia cu modificările imune la pacientele din lotul de studiu;
- Evaluarea interdependenței formelor clinico-morfologice ale tumorilor maligne cu prezența mutației majore a genei BRCA 1 la pacientele cu CGM și DZ tip 2;
- Studiarea 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 a volumului optim al intervențiilor 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 cancer mamar și diabet zaharat 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 și a particularităților clinico-morfologice ale pacienților cu CGM și DZ tip 2. S-a studiat corelația între prezența mutației majore a genei BRCA1 și influența determinismului imuno-genetic asupra formelor clinico-morfologice și tipurilor imuno-histochimice ale tumorilor maligne la pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat.

Problema științifică soluționată: s-au stabilit factorii 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. În baza factorilor de risc s-au determinat criteriile de apreciere a volumului optim al intervențiilor chirurgicale cu elaborarea unui algoritm. Pacienților cu criterii de prognostic nefavorabil se recomandă imperativ efectuarea mastectomiilor radicale în defavoarea tratamentului organomenajant sau reconstructiv.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării: Investigația completează studiile universale în domeniul mamologiei oncologice și diabetologiei, ce țin de particularitățile imuno-genetice și clinico-morfologice ale pacienților cu CGM și DZ tip 2, care permit personalizarea tacticii de tratament a acestor paciente. Sunt introduse în practică cotidiană al IMSP Institutul Oncologic și a Laboratorului Mamologie Oncologică principiile de conduită perioperatorie a pacienților cu CGM în asociere cu DZ tip 2. Sunt minimalizate indicațiile către micșorarea volumului intervențiilor chirurgicale, deseori neargumentate, datorită complicațiilor cardio-, nefro -și neurotoxice frecvent depistate la pacientele cu DZ.

Implementarea rezultatelor științifice: Valoarea științifică a rezultatelor studiului au fost aprobate și implementate 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.

АННОТАЦИЯ

Диана Ткачук

”Иммуно-генетические и клиничко-морфологические особенности рака молочной железы с сочетанным сахарным диабетом 2 типа”

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук
Кишинёв 2017.

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 37 рисунками и 28 таблицами, содержит 5 приложений. По материалам диссертации опубликовано 36 научных работ.

Ключевые 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: оценка иммуногенетических, клинических и морфологических особенностей РМЖ и разработка алгоритма для определения оптимального объема хирургического вмешательства у пациенток с сахарным диабетом 2-го типа.

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 клиничко-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;
- Определение 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 клиничко-морфологические формы и иммуногистохимические типы злокачественных опухолей у данной категории больных.

Научная проблема решенная в рамках исследования, относится к области онкомамологии и ориентирована на большую группу пациенток, которые перенесли два тяжелых ассоциированных заболевания – РМЖ и СД 2 типа. Были выбраны 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 разработанные 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.

SUMMARY

Diana Tcaciuc

" Features immuno-genetic, clinical and morphological characteristics of breast cancer in patients with type 2 diabetes mellitus"

Thesis MD, Chisinau 2017

The thesis structure: Introduction, 4 chapters of research, conclusions and recommendations, bibliographic index 178 sources. The thesis is presented on 150 pages of typed text, iconografic material contains 28 tables, 37 figures and 5 annex. The results were reported in the scientific publications 36

Keywords: Cancer of the breast, diabetes type 2 T cells, BRCA1 5382insC, triple negative carcinoma, HER2 / neu positive, surgical optimum volume

The research area: medicine, oncology.

Study aim: appreciation of peculiarities immuno-genetic, clinical and morphological characteristics of breast cancer and developing the algorithm for determining the optimum volume of surgery in patients with type 2 diabetes.

Thesis objectives:

- Studying the specific features of the immune status of patients with breast cancer and T2D.
- Presence of gene mutation in the BRCA 1 and 5382insC estimate its correlation with immune changes in patients in the study group.
- Evaluation of clinical and morphological forms interdependence of the presence of malignant tumors with BRCA1 gene mutation major in patients with breast cancer and T2D.
- Study immunohistochemical features and correlation with mutations in the BRCA1 gene in patients 5382insC study group.
- Selection of risk factors in the evolution of breast cancer in patients with diabetes by developing the algorithm for determining the optimum volume of surgery in these patients.

Research Methodology: The study consists of two phases: analytical-descriptive and non-experimental case-control study object being patient with confirmed diagnosis of breast cancer and type 2 diabetes associated with general and special methods.

Scientific novelty: For the first time made a comprehensive study of the changes immuno-genetic and morphological peculiarities of clinical-breast cancer for patients with type 2 diabetes was studied and the correlation between the presence of the BRCA1 gene mutation and major influence on the forms of determinism immunogenetics clinico-morphological and immunohistochemical types of malignant tumors in patients with breast cancer and diabetes.

The scientific solved problem: The study is a valuable contribution in completing research in oncology and breast cancer, targeting a large group of patients who had suffered two severe diseases associated – breast cancer and type 2 diabetes were selected and ranked factors in the development of cancer death risk breast in patients with type 2 diabetes, which led to the individualization and develop specific treatment algorithm for determining the optimum volume of surgery in these patients.

The theoretical significance and the applicative value of the work: research strategy allow to personalize the treatment of patients with breast cancer and type 2 diabetes. Based on the data embedded in the everyday practice of the principles of the perioperative management of patients with breast cancer and type 2 diabetes, and reduced to a minimum limit for the reduced volume of surgical intervention

Implementation of scientific results: The scientific value of the results of the study were approved and implemented in the Oncological Institute, scientific laboratory Mammology Oncology, chemotherapy and radiotherapy departments, offices profile of CCD, oncologists district and CMF

LISTA ABREVIERILOR

ADN	acidul dezoxiribonucleic
AFP	alfafetoproteină
AMPC	adenosin-monophosphat proteinkinază ciclică
	ANaliza VAriațiilor dintre grupurile de comparare
ANOVA	ANalysis Of VAriance between groups
APC	Celule prezentatoare de antigen
ARN	acidul ribonucleic
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
c-Erb-2	receptorul factorului de creștere epidermal
CGM	cancerul glandei mamare
CMF	Ciclofosfan-Metotrexat-Fluorurocil
	de asociere ”cancer mamar-cancer ovarian”
DS	deviația medie standard
DZ tip 2	diabet zaharat tip 2
ER+/-	estrogen-receptor-positiv/negativ
ES	eroare standard
FAC	Fluoruracil-Adriomicin-Ciclofosfan
gll	ganglioni limfatici
HBOC	hereditary breast-ovarian cancer syndrome, sindromul ereditar
HER-2/neu,	human epidermal growth factor receptor 2.
IDF	Federația Internațională de Diabet
IGF	factorul insulinic de creștere
IGF-1	factorul de creștere insulin-like 1
IL	interleuchina
IMC	Indicele Masei Corporale
IMSP IO	Instituția Medico-Sanitară Publică Institutul Oncologic
IR	Insulinorezistența
LTC	limfocitele T citotoxice
LTH	limfocitelor T helperI
LTS	limfocitelor T supresori
MHC	complexul major de histocompatibilitate
MUC1	mucină underglycosylată
NK	limfocite killer naturali
OMS	Organizația Mondială a Sănătății
PR+/-	progesterone-receptor-positiv/negativ
TAP	system de transportare asociat cu antigenul prezentat
TCR	receptor pentru limfocite T
TGFβ	factor beta de transformare a creșterii celulare

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate

Cancerul glandei mamare (CGM) are prioritate în programele naționale de sănătate în majoritatea țărilor lumii. Incidența sa variază de la 16-20 ‰ până la 80-91 ‰, cea mai înaltă înregistrându-se în Statele Unite ale Americii, Canada, Noua Zelandă, Europa de Vest [29, 168].

În Republica Moldova CGM ocupă primul loc în structura morbidității prin tumori maligne la femei. Incidența acestei localizări crește din an în an, constituind 52,9 ‰ sau 10,7 % în anul 2016 [1, 2].

Diabetul zaharat (DZ) ocupă o poziție de top în structura maladiilor endocrine în cele mai multe țări ale lumii, fiind numit “epidemie noninfecțioasă”. Conform datelor OMS, se denotă o creștere semnificativă a numărului persoanelor cu DZ care, afectează până în prezent circa 9% din populația lumii [95]. Situația este similară și în Republica Moldova, unde către anul 2016 au fost înregistrați 90 mii pacienți cu DZ, dintre care 95% îi revin DZ tip 2 și numai 5% - diabetului zaharat tip 1. Se estimează ca cifra reală va atinge 160 de mii de cazuri, cu o tendință constantă de creștere [1].

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

Astăzi, studiile științifice în domeniu denotă, că prezența DZ în mod constant este asociat cu un risc crescut de apariție și dezvoltare al cancerului de diferite localizări și anume: glanda mamară, pancreasul, ovarele, corpul uterin, colorectal, etc. [23, 49, 67, 117]. Conform părerilor a multor savanți Van de Pal France et. al., Shukla A, Grisouard J, et. al., diabetul este considerat un factor de risc major în apariția și evoluția CGM. [162, 163, 153]. Actualmente în lumea științifică se desfașoară polemici active asupra cauzelor și mecanismelor dezvoltării patologiei oncologice la pacienții cu DZ [35, 42, 98, 100, 137].

Continuă se fie o problemă de discuție posibila asociere a acestor două maladii din cauza unor factori de risc comuni cum ar fi: obezitatea, hipertensiunea arterială, modul alimentar, sedentarismul, vârsta, factorii genetici, etc., [42, 58, 79].

Discutabil este faptul corelării directe dintre CGM și DZ, ultimul având rol de marker biologic (din cauza hiperglicemiei), care modifică riscul apariției și evoluției CGM. Reșind din cele relatate mai sus, apar un șir de întrebări ce țin de durata diabetului, de terapia specifică utilizată în tratamentul acestuia, de interdependența statusului imun și genetic la pacientele cu ambele patologii și care ar fi repercursiunile DZ asupra tabloului clinic și morfopatologic al CGM? Nici problema ce ține de aspectul statusului imun în cazul CGM asociat cu DZ tip 2 nu este soluționată definitiv. În timp ce sistemul imun poate recunoaște și controla practic orice infecție apărută în organism, nu putem spune același lucru și în cazul apariției celulelor neoplazice, când răspunsul imun nu are eficiența așteptată. În realitate, majoritatea antigenelor tumorale se manifestă ca imunogene heterogene cu un grad slab de exprimare. În același timp, la nivelul celulei tumorale există și antigene supraexprimate, dar, care sunt în cantități

mici, practic, ca și în celulele normale. În cazul CGM, antigenul tumoral, recunoscut de limfocitele efectoare, este prezentat de receptorul membranal HER-2/neu, cunoscut ca și c-Erb-2 (receptor tirozin-kinazic omolog cu cel al factorului de creștere epidermal) [32, 131]. E interesant, dacă există vre-o diferență de expresie a acestor receptori la pacienții cu CGM care suferă și de DZ tip 2.

Este cunoscut deja faptul, că 5-12% dintre cazurile de CGM sunt ereditare, iar apariția acestuia este asociată cu mutații înalt penetrante germinale 15382insC în gena BRCA 1 (cromozomul 17q21) și BRCA 2 (cromozomul 13q12), care predispun dezvoltarea cancerului mamar și ovarian [20, 26, 31]. În familiile cu incidența crescută a CGM (cel puțin 4 membri) 50% din indivizii afectați au mutații în gena BRCA 1 5382insC și 30% - în gena BRCA 2. În familiile cu incidența crescută atât a CGM, cât și al cancerului ovarian, 75% din cazuri sunt atribuite modificărilor în gena BRCA 1 5382insC și 23% - în gena BRCA 2. Moștenirea unei mutații în gena BRCA 1 5382insC determină un risc de peste 90% de a face cancer mamar [Breast Cancer Linkage Consortium 2012]. Se cunoaște, că CGM ereditar, în comparație cu cel sporadic, se caracterizează printr-un grad înalt de malignizare al tumorilor, labilitate morfologică cu modificarea histiogenezei, patomorfoză pronunțată (până la regresia completă a tumorii) în rezultatul tratamentului administrat [130]. Cunoașterea interdependenței factorilor genetici și concomitenței DZ este dictată de necesitatea individualizării tacticii de tratament al acestei categorii de pacienți.

În pofida progreselor vertiginoase în tratamentul chimio-și radioterapic, intervenția chirurgicală rămâne a fi metoda de bază în tratamentul pacienților cu CGM [11, 24]. Până în prezent nu există o opinie unică în vederea conduitei perioperatorii a pacienților cu cancer mamar și diabet, ținând cont de unele investigații speciale și particularități de pregătire către intervențiile chirurgicale. Sunt păreri contradictorii și în privința volumului intervențiilor chirurgicale, ținându-se cont de complicațiile severe ale DZ, dar și de respectarea radicalismului procedurii chirurgicale. Mai mult ca atât, această decizie nu trebuie să se rasfrângă asupra prognosticului și supraviețuirii pacienților.

Autorii De Santis, Lin C.C., Mariotto A.B. confirmă că DZ concomitent condiționează la pacienții cu CGM restricții vădite la toate etapele tratamentului, chiar în lipsa decompensării acestuia [77, 162]. Complicațiile specifice DZ tip 2 (cardio-, nefro -și neuropatiile), care sunt foarte frecvent depistate, condiționează minimalizarea volumului intervenției chirurgicale sau chiar refuzul aplicării tratamentului chirurgical.

Multitudinea aspectelor controversate ce țin atât de aspectele imuno-genetice, cât și cele clinico-morfologice ale pacienților cu CGM și DZ tip 2, dictează necesitatea unei abordări specifice, multilaterale în individualizarea tratamentului acestei categorii de pacienți. Pentru a răspunde concret la aceste întrebări a fost necesară inițierea unui studiu științific multilateral, ce include ambele patologii: atât cancerul mamar (evaluarea aspectelor statusului imun, a particularităților genetice, clinice și

morfologice), cât și diabetul zaharat (durata acestuia, controlul glicemic, gradul de compensare a patologiei, terapia specifică administrată, etc.).

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

Obiectivele studiului:

1. Studierea particularităților statusul imun specific a pacientelor cu CGM asociat cu DZ
2. Determinarea prezenței mutației 5382insC în gena BRCA 1 și estimarea corelației acesteia cu modificările imune la pacientele din lotul de studiu.
3. Evaluarea interdependenței între formele clinico-morfologice ale tumorilor maligne cu prezența mutației majore a genei BRCA 1 la pacientele cu CGM și 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 intervențiilor 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 reviu literaturii de specialitate și pentru formularea concluziilor. Observația directă și indirectă (examenul clinic al pacientelor suplimentat de analiza fișelor de observație) și comparația au stat la baza studiului clinic efectuat. Pentru selectarea pacientelor incuse în studiu s-au utilizat criteriile de includere și excludere. Loturile de paciente incluse în studiu au fost omogene și 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 prezența în studiu a indicilor cu mai multe variate (nominale și scalare), datele statistice s-au prelucrat separat.

Rezultatele obținute au fost procesate statistic prin analizele variațională, regresională, clusteriană, scanării multiple, factorială corelațională ANOVA cu calcularea mediei aritmetice (M), erorii standard (ES), deviației medii standard (DS), coeficienților de corelare parametrici (r) și nonparametrici Spearman, Kendall tau, gamma (Rr). Veridicitatea diferenței mediilor aritmetice (P) a fost comparată cu ajutorul criteriului (t) Student.

Problema științifică soluționată s-au stabilit factorii primordialii 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. În baza factorilor de risc s-au determinat 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.

Noutatea științifică a rezultatelor obținute

1. Au fost determinate modificărilor imuno-genetice, particularităților clinice și morfologice ale pacientelor cu CGM și DZ tip 2.
2. S-a stabilit corelația acestor parametri în funcție de vârsta pacientelor, extinderea procesului tumoral, gradului de compensare al DZ tip 2 și complicațiile acestuia.
3. S-a determinat mutația majoră a genei BRCA1 cu stabilirea corelației acesteia cu particularitățile imunologice și clinico-morfologice ale acestor pacienți.
4. În baza cercetărilor analitice s-a apreciat gradul dependenței și influenței determinismului imuno-genetic atât asupra evoluției clinice, cât și a tipului morfopatologic al tumorilor maligne la pacientele cu CGM și DZ tip 2.
5. S-au selectat factorii de risc în prognosticul CGM la pacientele cu DZ asociat în baza cărora s-a elaborat algoritmul de determinare a volumului optim al intervenției chirurgicale la pacientele incluse în studiu.

Importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării

Lucrarea dată se înscrie în cadrul strategic de cercetare științifică 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 interdependenței dintre timpul depistării, forma și gravitatea DZ, a particularităților evoluției clinice, a dereglărilor imune, prezenței mutației majore în gena BRCA 1, a permis selectarea factorilor de risc în prognosticul patologiei neoplazice la pacientele loturilor de studiu. Sumarul datelor obținute ne-a permis elaborarea unui algoritm de determinare a volumului optim al intervenției chirurgicale, care face posibilă personalizarea tacticii de tratament a pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat.

În rezultatul cercetării au fost stabilite și introduse în practica cotidiană IMSP IO și Laboratorul Mamologie Oncologică principiile de conduită perioperatorie a pacientelor cu neoplazie mamară și diabet, ținând cont de numeroasele particularități specifice diabetului zaharat.

Implementarea rezultatelor științifice

Rezultatele lucrării au fost implementate atât în secțiile specializate de mamologie, chimioterapie și radioterapie ale IMSP Institutul Oncologic cât și în Centrul Consultativ Diagnostic.

Aprobarea rezultatelor

Cercetările științifice și materialele studiului au fost prezentate și discutate la 16 forumuri naționale și internaționale (Moldova, România, Ucraina, Russia, Portugalia), conferințele anuale ale

Colaboratorilor și Studenților USMF "N. Testemițanu", ședințele Societății Oncologilor ale IMSP IO în anii 2010-2016: Simpozionul Național „Actualități în diagnosticul și tratamentul contemporan al tumorilor organelor reproductive la femei”, Chișinău, Moldova 2008; Congresul III Național de Oncologie, Chișinău, Moldova 2010; Conferința științifico-practică "Tehnologii Moderne în Oncologie" Chișinău, Moldova 2011; Conferința științifico-practică "Aplicări de lasere în medicină", Chișinău, Moldova 2011; Congresul bienal de Cancer Mamar, Băile Felix, România, 2010; Curs ESO (Școala Europeană a Oncologilor) - program educațional în cancerul mamar, prezent și perspective, Băile Felix, România 2010; Conferința națională „Zilele Oncologiei Iașene”, Iași, România 2010; Eurasian Cancer Diagnostic Forum Ukraine, Kyiv 2011; XII Съезд онкологов Украины, Ukraine, Sudac, Krim 2011; Congresul Internațional Cancerul mamar: de la teorie la practică, Oradea, România 2012; Zilele Oncologiei Iașene, ediția a VIII-a Iași, România 2012; Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, România 2012; Simpozion Științific "Aspecte contemporane în tratamentul infecțiilor virale sexual transmisibile", Moldova-Rusia 2012; Confer, Zilele Oncologiei Iașene, ediția a IX, Iași, România 2013; Simpozion Științific "Aspecte contemporane în tratamentul infecțiilor virale sexual transmisibile", Moldova-Rusia, 2012; Seminar științifico-practic "Managementul maladiilor în baza protocoalelor clinice" Chișinău, Moldova, 2012; Seminar științifico-practic "Riscul cancerului de sân vis-a-vis de terapia de substituție hormonală la pacienți în menopauză ", 2012; Conferința științifico-practică "Posibilități moderne în diagnosticul și tratamentul patologiilor oncologice orbitale" 2012; Conferința științifico-practică "Actualități în neurooncologie" , Chișinău, Moldova, 2013; Conferința științifico-practică "Patologia nodulară și cancerul glandei tiroide", Chișinău, Moldova, 2013; Conferința științifico-practică "Managementul chirurgiei miniinvazive în oncologie" Chișinău, Moldova 2013; Proiect de transfer tehnologic și de inovare "Diagnosticul imunocitochimic al statutului HER/2neu prin biopsie aspirativă cu ac fin la pacienții cu cancer mamar", 2013; CONFER Conferința Institutului Oncologic Regional din Iași, România, 2014; Congresul IV Național de Oncologie, 8-9 octombrie, Chișinău, Republica Moldova 2015; Congresul al XII-lea al Asociației Chirurgilor "Nicolae Anestiadi" din Republica Moldova 23-25 septembrie 2015; Cursul European –*Breast cancer - centimetric / infracentimetric forms - origin, detection, treatment*. Craiova, România, 2016; Școala de vară "Actualități în diagnosticul și tratamentul cancerului Mamar", Iași, România 2016; Simpozion cu participare internațională, consacrat aniversării de 40 de ani ai Catedrei de Oncologie, Hematologie și Radioterapie "Vigilența oncologică în activitatea medicală, depistarea precoce și tratamentul tumorilor", Chișinău, Moldova, 2016; Cursul EUROSON SCHOOL, Breast Cancer. Lobar Origine, lobar multimodal ultrasound diagnosis and lobar treatment-perspectives. 22-23 iunie 2016, Craiova, România; The EUROMED Cancer Screening Network. Cancer screening and early diagnosis strategies in limited resource settings, VI workshop Organized by the CPO WHOCC for cancer early detection and screening In collaboration with WHO Regional Offices for Europe Italy, Turin, 12-14 December 2016.

Rezultatele științifice obținute ale cercetării au fost prezentate și discutate în cadrul ședinței Laboratorului Mamologie Oncologică IMSP Institutul Oncologic din 30.12.2015 (procesul verbal nr. 7 din 30.12.2015), aprobate în cadrul Seminarului Științific de Profil din 07.12.2016 (procesul verbal nr.9 din 07.12.2016) și Consiliului Științific al IMSP Institutul Oncologic din 26.12.2017.

SUMARUL COMPARTIMENTELOR TEZEI

Lucrarea este expusă pe 150 pagini de text electronic și se compartimentează în: introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări, sinteza rezultatelor obținute, indicele bibliografic cu 178 de surse citate. Materialul ilustrativ include 28 de tabele și 37 figuri. Materialele cercetării au fost reflectate în 36 de publicații științifice, inclusiv 12 articole, 1 publicație de monoautorat, 28 comunicări rezumative la forumuri internaționale și naționale. Rezultatele studiului au fost raportate în 7 rapoarte internaționale și 7 naționale, 2 cereri pentru brevete de invenții și 3 inovații.

Cuvinte cheie: cancerul glandei mamare, diabet zaharat tip 2, limfocite T, BRCA1 5382insC, carcinom triplu negativ, HER2/neu pozitiv, volumul optim chirurgical.

Introducerea elucidează situația actuală în domeniul neoplaziilor mamare și a diabetului zaharat și argumentează necesitatea studierii acestora. Repererele conceptuale ale lucrării sunt redată prin scopul și obiectivele studiului, noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și semnificația practică.

Capitolul 1 (Viziuni contemporane asupra statusului imuno-genetic și clinico-morfologic ale cancerului glandei mamare la pacientele cu diabet zaharat tip 2 asociat.) conține viziuni conceptuale contemporane privind aspectele etiopatogenetice în determinismul neoplaziilor oncologice și a diabetului zaharat tip 2. S-au analizat publicațiile ce abordează diverse modalități de asociere a CGM și DZ tip 2, particularități de diagnostic, evoluție clinică, conduită și de tratament al acestor paciente. Sunt stipulate opiniile dualiste asupra influenței concomitenței cancerului mamar și diabetului zaharat. În mod deosebit s-au studiat publicațiile ce țin de particularitățile imunității generale și antitumorale, de mutațiile genetice specifice, de aspectele clinico-morfologice și de tratament, inclusiv, chirurgical al pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat.

În **Capitolul 2 (Materialul și metodele de cercetare)** este prezentat design-ul cercetării, metodele de investigații și caracteristica generală a lotului de studiu, care include 246 de paciente, dintre care 107 paciente cu CGM și DZ tip 2 și 139 paciente numai cu cancer al glandei mamare. La 108 paciente din lotul general în premieră s-a efectuat analiza genetică pentru prezența mutației înaltpenetrante 5382insC în gena BRCA 1. Materialul acumulat a fost analizat statistic, aplicându-se programele *IBM SPSS Statistics pentru Windows, versiunea 20* și *Microsoft Excel 2010*, prin diferite metode de apreciere a veridicității: criteriul de corespundere χ^2 , criteriul t-Student de comparare a valorilor medii, indicele de corelare r, etc.

În Capitolul 3 (Particularitățile imuno-genetice la paciențele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat) sunt reliefate particularitățile imunității generale și antitumorale specifice paciențelor lotului de studiu. Se efectuează o analiză amplă a lanțului T-limfocitar general și T-limfocitar antitumoral, cu toate determinantele celulare a T limfocitelor: CD3, helper-efectoare CD4, supresoare-citotoxice CD8 și CD16. Pentru prima dată la paciențele ambelor loturi s-a determinat prezența mutației înaltpenetrante 5382insC în gena BRCA 1. Rezultatelor obținute denotă, că organismul uman are o anumită susceptibilitate genetică și la intervenția unor factorilor de mediu, ar fi capabil să declanșeze un dezechilibru imun, implicând celulele imunocompetente (CD4, CD8 și CD16), ce stau la baza imunității antitumorale. Mai mult ca atât, rezultatele investigațiilor imuno-genetice ne-au permis de a corela interacțiunea acestor parametri la paciențele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2.

În Capitolul 4 (Particularități clinico-morfopatologice ale paciențelor cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2.) sunt prezentate unele caracteristici ale paciențelor investigate: vârsta, perioada biologică, formele clinice ale proceselor maligne, gradul de răspândire loco-regională, multicentricitatea tumorilor, etc. Sunt focalizate principalele caracteristici ale diabetului zaharat (durata până la apariția CGM, gradul de compensare al acestuia, tratamentul administrat, etc.,) care pot condiționa tratamentul, evoluția și prognosticul cancerului mamar. Se prezintă rezultatele investigațiilor morfologice și subtipurile moleculare imunohistochimice și corelația lor cu prezența mutației genetice în gena BRCA 1. Tot în acest capitol sunt selectați și ierarhizați factorii decisivi de risc în evoluția cancerului mamar la paciențele cu diabet zaharat. În baza tuturor investigațiilor efectuate și a selectării factorilor de risc în evoluția neoplaziilor mamare a fost elaborat algoritmul de selectare al volumului optim chirurgical.

Sinteza rezultatelor obținute este un compartiment de analiză și concluzii argumentate asupra rezultatelor investigațiilor proprii confruntate cu evidențele și opiniile expuse în literatura de specialitate cu referire la domeniul abordat.

1. VIZIUNI CONTEMPORANE ASUPRA STATUSULUI IMUNO-GENETIC ȘI CLINICO-MORFOLOGIC AL CANCERULUI MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT

TIP 2

Incidența cancerului mamar și a diabetului zaharat a crescut pe parcursul ultimelor decenii paralel cu epidemia de obezitate. CGM este una dintre cele mai importante preocupări în populația feminină din întreaga lume, fiind cel mai frecvent tip de cancer în rândul femeilor din țările dezvoltate, afectând una din fiecare a opta femeie (13%). În 2015, incidența CGM a prezentat peste un milion de cazuri la nivel mondial cu o ascensiune anuală de 5% în țările dezvoltate, iar în fiecare an mai mult de 400.000 de femei decedează din cauza acestei maladii [168].

Situația similară este și în Republica Moldova. Conform datelor Cancer Registrului Național, ponderea CGM prezintă aproximativ 10,7% din toate cazurile de cancer la populația feminină, anual înregistrându-se câte 837-1013 cazuri noi. Prevalența morbidității în anul 2015 a constituit 521,5 la 100 000 de femei sau 9480 paciente [1, 2].

La începutul secolului XXI experții Federației Internaționale de Diabet (IDF) au prognozat o creștere vertiginoasă a numărului de pacienți cu DZ - de la 190 mln până la 380 mln către anul 2025. Recent IDF a publicat date, conform cărora în anul 2016 au fost înregistrați deja 415 mln de pacienți cu DZ, aproximativ jumătate dintre ei în vârstă aptă de muncă - 40-59 de ani. Până în prezent, incidența maladiei se dublează la fiecare 10-15 ani, iar către anul 2040 va atinge cifra de 642 mln de bolnavi [95].

În Republica Moldova morbiditatea prin diabet zaharat a crescut cu 1,5 ori în ultimii 10 ani, în anul 2016 fiind înregistrați 90392 mii pacienți cu DZ, dintre care doar 369 cazuri-diabet zaharat la copii și 90023 cazuri (99,5 %) – diabet zaharat la adulți (se estimează că cifra reală ar atinge 160 de mii de cazuri), prezentând o dublare a morbidității în ultimii 10 ani, cu o tendință constantă de creștere [1, 95].

Creșterea continuă a incidenței DZ prezintă legități constante și anume: prevalența netă a DZ tip 2 (90-95%) vs DZ tip 1 (5-10 %), consolidarea pozițiilor DZ tip 2 în grupul pacientelor de vârstă pre-și postmenopauzală, ”întinerirea” considerabilă a patologiei, etc.

Stratificarea pe zone geografice relevă, că incidența CGM asociat cu DZ în America și Europa a crescut cu 16% și 18%, respectiv, iar diferența a fost statistic semnificativă (95% CI 1.12-1.20 din America, 95% CI 1.56-1.25 din Europa). Acest fenomen nu e caracteristic și pentru Asia (RR = 1.01 95% CI 0.84-1.21). Rezultatul demonstrează că incidența CGM asociat cu DZ poate fi explicată prin particularități etnice, diferențele regionale și, posibil, statusul genetic populațional [73, 29].

1.1. Mecanismele carcinogenezei neoplaziilor mamare asociate cu diabetul zaharat 2

Maladiile neoplazice apar în rezultatul alterării mecanismelor care controlează și reglează diviziunea celulei normale, în rezultatul căreia apar celule cu modificări fenotipice progresive, care se multiplică continuu și anarhic. Epidemia de DZ este cauzată atât de majorarea paralela a ”presiunii glucidice”- glycemie load (ce reprezintă produsul indicelui glicemic al alimentelor și cantitatea glucidelor din produsele alimentare), cât și de creșterea considerabilă a numărului de persoane supraponderale.

Diabetul zaharat - este un sindrom complex și eterogen, indus de tulburarea genetică sau câștigată, a secreției de insulină și/sau de rezistența celulelor periferice la acțiunea insulinei, fapt, care induce modificări profunde în metabolismul proteic, glucidic, lipidic, ionic și mineral. Dereglările menționate stau la baza apariției unui spectru larg de complicații cronice, care afectează mai mult sau mai puțin toate țesuturile organice [9].

Diabetul zaharat tip 1 - este considerat la ora actuală ca o afecțiune autoimună cu etiologie multifactorială, produsă de o interacțiune complexă a mai multor factori genetici și de mediu, a căror consecință este distrucția progresivă a celulelor beta-pancreatice (cele care sintetizează insulina) și în final, deficitul absolut de insulină endogenă. DZ tip I se mai numește și diabet insulino-dependent (juvenil) - deoarece în momentul diagnosticului producția proprie de insulină este extrem de mică sau absentă, fiind necesară administrarea insulinei chiar de la început. Nu există alte medicamente care să înlocuiască insulina. La apariția DZ tip I contribuie mai mulți factori. În primul rând trebuie să existe o predispoziție genetică. La aceasta se adaugă anumiți factori (infecțioși, alimentari, toxici) a căror acțiune va determina apariția unui răspuns imun împotriva celulelor beta din pancreas. Vârsta la care apare diabetul insulino-dependent este de până la 40 de ani pentru majoritatea bolnavilor. Aproape toți cei la care boala debutează până la 30 de ani prezintă acest tip de diabet. Debutul bolii este relativ brusc, simptomatologia fiind evidentă cu 2-3 săptămâni înaintea diagnosticului [95].

Diabetul zaharat tip 2 – este un sindrom eterogen a cărui etiopatogenie implică atât factori genetici, cât și de mediu, ale cărui mecanisme intime moleculare nu sunt încă elucidate. Se admite existența a două defecte metabolice majore: deficitul de secreție beta-celulară și rezistența țesuturilor țintă la acțiunea insulinei. Se mai numește și DZ tip II insulino-independent (de maturitate) – apare la persoane adulte, bolnavii pot fi obezi sau nu, sunt implicați factori genetici, dar și factorii de mediu și ai stilului de viață.

Dezvoltarea DZ tip II are la origine insulino-rezistența. Aceasta se definește ca o lipsă de efect la acțiunea insulinei asupra celulelor organismului. Drept urmare, glicemia va crește, neputând fi utilizată de celulele. Consecința insulino-rezistenței este hiperinsulinismul, adică o creștere exagerată a concentrației insulinei din sânge datorită stimulării puternice a celulelor beta din pancreas de către glicemia crescută. *Se ajunge astfel la situația paradoxală în care există și o glicemie*

crescută, dar și o insulinemie crescută. Stimularea în exces a celulelor beta de către hiperglicemia permanentă va duce în timp la o alterare a producției de insulină, mergând până la epuizarea acestor celule. Factorii etiologici implicați în dezvoltarea DZ tip 2 sunt: ereditatea, obezitatea, sedentarismul, stresul, substanțele chimice și medicamente (corticoizi, unele diuretice, anticonvulsivante, beta - blocante, citostatice).

Diabetul zaharat secundar – sau altfel denumit, alte tipuri specifice de diabet, reunește un grup eterogen de afecțiuni, care au în comun prezența unei explicații relativ clare pentru apariția diabetului (lezarea pancreasului endocrin prin factori diverși: infecțioși, toxici, medicamentoși, ateroscleroza sau suprasolicitarea funcțională a pancreasului endocrin prin exces de glucide, obezitate, etc.)

Diabet gestațional – reprezintă „orice grad de intoleranță la glucide, cu debut sau manifestare primară în timpul sarcinii”, indiferent de evoluția postpartum sau de tratamentul necesar pentru echilibrarea dereglărilor metabolice [9].

Reamintim, că în prezent DZ tip 2 afectează mai mult de 9% din populația adultă din țările dezvoltate ale lumii. [95].

Ca o consecință firească și numărul pacienților cu CGM asociat cu DZ tip 2 înregistrează o ascensiune vădită. Una dintre posibilele explicații ale acestei asocieri poate fi faptul, că ambele afecțiuni prezintă factori comuni de risc. Posibila dependență dintre hiperglicemie, DZ și CGM a fost pentru prima dată suspectată în urmă cu mai mult de un secol, hiperglicemia fiind raportată la pacienții cu cancer încă în anul 1885. Începând cu anul 1950 tot mai des apăreau relatări că paciențele cu CGM suferă de diabet mai frecvent, decât paciențele sănătoase [58, 139, 174].

Johnson JA, Bowker SL et al. (2011) susțin, că DZ și CGM au o prevalență mai mare în țările dezvoltate, unde predomină stilul de viață sedentar, stresul cronic și modul alimentar cu nivel crescut de grăsimi saturate și glucide rafinate [100, 101].

Multiplele studii epidemiologice sugerează, că nu numai cancerul mamar poate fi asociat cu DZ tip 2, dar și cel endometrial, hepatic, pancreatic, colorectal, de vezică urinară. Studiile respective relatează, că efectele biologice ale diabetului pot acționa sinergic cu alți factori de risc în dezvoltarea cancerului, în special în localizările hormonodependente [58, 79, 86, 119].

Giovannucci E et al., 2011 susțin, că asocierea dintre cancer mamar și diabet zaharat tip 2 poate fi una directă (datorită acțiunii glucozei prin hiperglicemie constantă, insulinorezistenței și hiperinsulinemiei) și indirectă (multipli factori comuni de risc, cum ar fi vârsta, sexul, obezitatea, activitatea fizică etc.) [76]

În această ordine de idei, DZ tip 1 este *o patologie autoimună ce provoacă distrucția celulelor-β insulinoproducătoare și se manifestă prin insuficiență insulinică absolută.* Insuficiența insulinică absolută condiționează dezvoltarea hiperglicemiei, intensifică lipoliza, proteoliza și

producerea corpurilor cetonici. Ca consecință se dezvoltă deshidratarea, cetoacidoza și schimbări electrolitice severe. Pe când DZ de tip 2 este o patologie cronică caracterizată prin insulinorezistență, hiperinsulinemie compensatorie (cu efectele proliferative și antiapoptotice ale insulinei circulante), obezitate (cu excesul de producere al fracțiilor estrogenice și hiperestrogenemie prin aromatizarea la nivelul țesutului adipos abdominal periferic), sindrom metabolic.

Cercetările experimentale demonstrează efectul cancerigen al insulinei, care contribuie la divizarea celulelor canceroase prin acțiunea mitogenă la nivel genetic. Ca rezultat, are loc inducerea expresiei unor gene specifice, care stimulează sinteza de ADN și proteine, conducând, în cele din urmă, la activizarea divizării celulare.

Insulina poate stimula replicarea datorită capacității sale de a activa sau inactiva enzimele prin reglarea vitezei și gradului de fosforilare al proteinelor sau reglând sinteza enzimelor. Chiar unele concentrații mici de insulină stimulează replicarea (cel mai probabil prin intermediul receptorilor de insulină) și, de cele mai multe ori, acest fenomen are loc în absența altor factori peptidici de creștere. Insulina prezintă un component indispensabil al tuturor mediilor de cultivare tisulară, susține creșterea și replicarea celulelor de origine epitelială, inclusiv a hepatocitelor, a celulelor tumorale suprarenale și a celor glandulare.

În determinarea mecanismelor de acțiune a insulinei asupra expresiei genelor responsabile pentru proliferarea celulară și de utilizare a glucozei a fost stabilit că regularea genei insulinei FEI-1 (early growth response gene) și glyceraldehyde-3-fosfatdehidrogenazei este mediată prin diferite căi de semnalizare.

Este necesar de a sublinia acțiunea antiapoptotică a insulinei. Despre acțiunea antiapoptotică se poate judeca prin analiza interrelației a celor două procese antagoniste: de reînnoire și moarte celulară, care sunt reglate pentru a obține răspunsul celular adecvat.

Deci, s-a constatat că insulina și factorul IGF-1 joacă un rol cheie în stimularea organogenezei, dezvoltării și creșterii celulelor maligne mamare prin intermediul efectelor mitogenice și antiapoptotice. Pe de altă parte, celulele tumorale în cancerul mamar prezintă o supraexpresie a receptorilor membranici pentru insulină și factorul insulenic de creștere (IGF). Pe lângă funcțiile sale metabolice, insulina și factorul IGF stimulează proliferarea celulelor neoplazice și apariția metastazelor. Astfel, hiperinsulinismul provoacă proliferarea și creșterea nu numai a celulelor glandulare normale, dar și a celor canceroase.

Așadar, diabetul zaharat tip 2 poate influența procesul neoplazic prin mai multe mecanisme, incluzând hiperinsulinemia endogenă (datorită insulinorezistenței) sau exogenă (datorită insulinei administrate sau secretate) și hiperglicemia.

O meta-analiză a studiilor (11 studii de cohortă și 5 studii de caz-control) ce pun în evidență asocierea "cancer mamar-diabet zaharat" în perioada anilor 2001-2016 stabilește existența unei

legături de cauzalitate dintre apariția neoplaziilor pe fondal de diabet zaharat (în particular-diabet zaharat tip 2) [170]. Diabetul zaharat asociat se prezintă ca un factor de risc pentru dezvoltarea neoplaziilor (coeficientul de risc HR "Hazard Ratio" plasându-se între 0,95-2,35 cu intervalul de confidență CI 0,82-2,92), agravează evoluția bolii, micșorează intervalul liber până la progresare, scade rata supraviețuirii maladiei (figura 1.1)

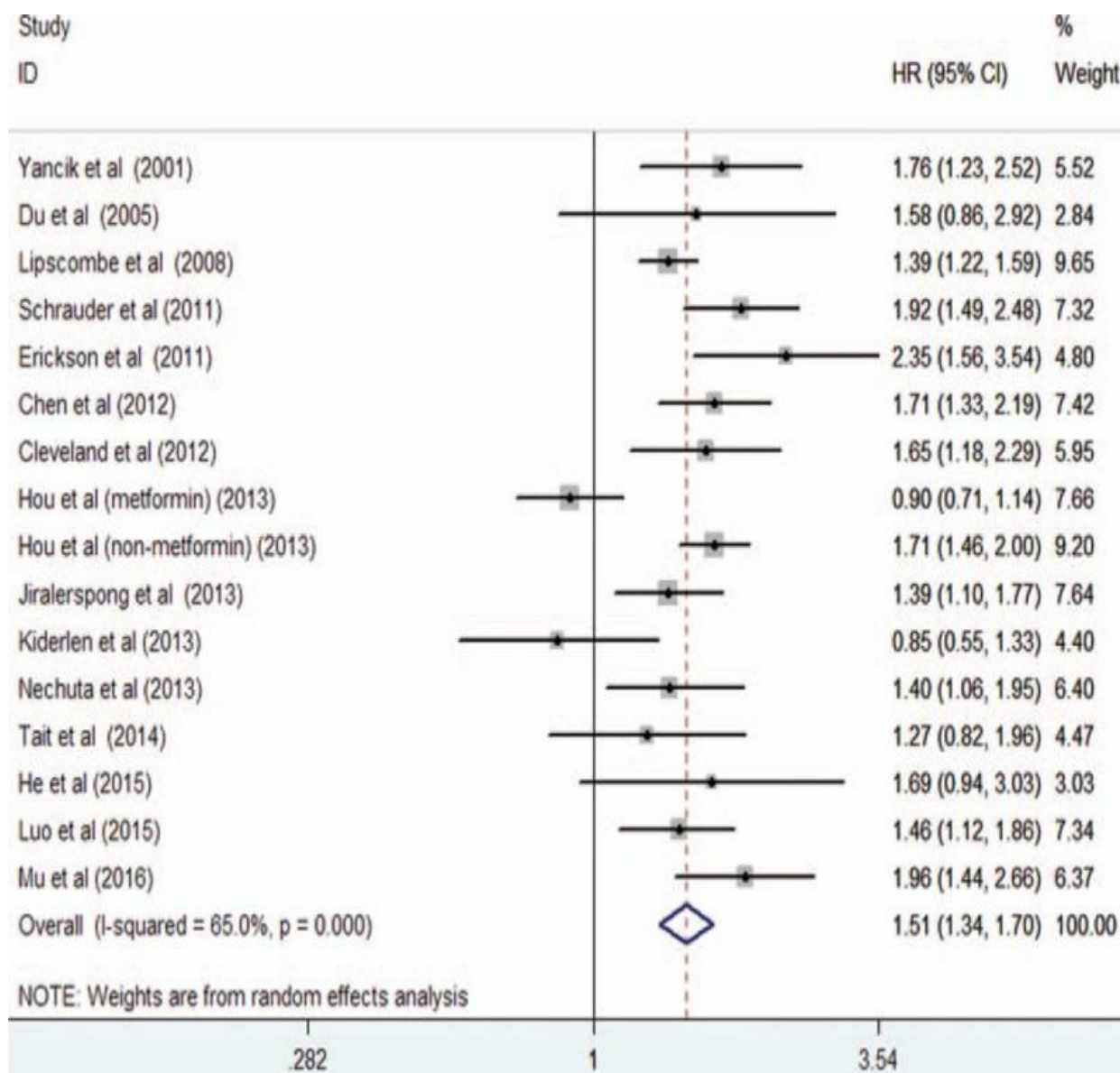


Fig. 1.1 Sumarul asocierii neoplaziilor cu diabetul zaharat tip 2 (2001-2016) [170]
(HR- Hazard Ratio, coeficientul de risc, CI-intervalul de confidență, în studiile de cercetare al supraviețuirii pacienților cu CGM și diabet zaharat versus pacienți nondiabetici)

Carcinogeneza este un proces multistadial în care o celulă normală dobândește proprietăți ce permit dezvoltarea fenotipului malign (proliferarea necontrolată, invazia locală și metastazarea), care este rezultatul unor interacțiuni multiple între diverși factori exogeni și endogeni (genetici, hormonal, imunologici și metabolici). Acest proces de transformare malignă poate fi împărțit în mai multe etape: inițierea (prima etapă ireversibilă spre cancer), promovarea (stimularea creșterii celulelor inițiate) și progresia (dezvoltarea unui fenotip mai agresiv al celulelor promovate) [28, 33].

Factorii, care intervin la una sau mai multe din etapele cancerogenezei, se asociază cu incidența crescută a cancerului și rata mai mare a mortalității. Diabetul poate influența procesul neoplazic prin mecanisme severe, cum ar fi hiperinsulinemia (de origine endogenă, condiționată de insulinorezistență, sau exogenă, prin administrarea insulinei), inflamația cronică și hiperglicemia [76].

În general, celula canceroasă prezintă particularități specifice ale metabolismului glucidic intracelular, manifestându-se prin necesități energetice crescute și utilizare intensă a glucozei. [70, 113, 143].

Insulinorezistența (IR) prezintă mecanismul patogenetic de bază în dezvoltarea DZ tip 2 și este definită ca o stare în care o anumită concentrație de insulină determină un răspuns biologic mai redus decât cel normal, condiționând o incapacitate a organelor „țintă“ (ficat, țesut adipos, musculatura striată) de a răspunde în mod normal la acțiunea insulinei, cu consecințe diferite la nivelul fiecărui organ. [90, 133]. Această definiție se referă la toate efectele biologice ale insulinei, nu numai la cele asupra metabolismului glucidic, dar și la cel lipidic și proteic. De asemenea se referă la funcțiile mitogene ale insulinei. În practică, termenul de insulinorezistență se referă numai la efectul insulinei asupra captării și utilizării glucozei în țesuturile periferice.

Insulinorezistența determină scăderea utilizării glucozei în periferie (muschii scheletici și țesutul adipos), ce conduce la creșterea necesității de insulină. La nivelul mușchiului scheletic insulinorezistența diminuează captarea

glucozei și depozitarea sub formă de glicogen, la nivel hepatic scade capacitatea de a supresa eliberarea de glucoză în pofida hiperglicemiei „*a jeun*“ și a unor niveluri normale sau crescute ale insulinemiei. La nivelul țesutului adipos, insulinorezistența anulează supresia lipolizei, ceea ce duce la eliberarea crescută de acizi grași liberi în circulația portală, urmată de producție excesivă de trigliceride și apolipoproteina B în ficat.

Mecanismul de acțiune al insulinei. Cercetările experimentale demonstrează efectul cancerigen al insulinei, care contribuie la divizarea celulelor canceroase prin acțiunea mitogenă la nivel genetic. Ca rezultat, are loc inducerea expresiei unor gene specifice, care stimulează sinteza de ADN și proteine, conducând, în cele din urmă, la activizarea dividerii celulare [38, 40, 83].

Insulina poate stimula replicarea datorită capacității sale de a activa sau inactiva enzimele prin reglarea vitezei și gradului de fosforilare al proteinelor sau reglând sinteza enzimelor. Chiar unele concentrații mici de insulină stimulează replicarea (cel mai probabil prin intermediul receptorilor de insulină) și, de cele mai multe ori, acest fenomen are loc în absența altor factori peptidici de creștere. Insulina prezintă un component indispensabil al tuturor mediilor de cultivare tisulară, susține creșterea și replicarea celulelor de origine epitelială, inclusiv a hepatocitelor, a celulelor tumorale suprarenale și a celor glandulare [59, 78, 146].

Acțiunea mitogenă a insulinei este realizată printr-un lanț complex de reacții de semnal: activarea proteinkinazei AMPc-dependente, fosforilarea și activarea factorului de transcripție nucleară, inducerea și exprimarea genelor AMPc-dependente, care în cele din urmă conduc la stimularea proliferării celulelor [80, 114, 138].

În determinarea mecanismelor de acțiune a insulinei asupra expresiei genelor responsabile pentru proliferarea celulară și de utilizare a glucozei a fost stabilit că regularea genei insulinei FEI-1 (early growth response gene) și glyceraldehyde-3-fosfatdehidrogenazei este mediată prin diferite căi de semnalizare [63].

Este necesar de a sublinia acțiunea antiapoptotică a insulinei. Despre acțiunea antiapoptotică se poate judeca prin analiza interrelației a celor două procese antagoniste: de reînnoire și moarte celulară, care sunt reglate pentru a obține răspunsul celular adecvat.

Deci, s-a constatat că insulina și factorul IGF-1 joacă un rol cheie în stimularea organogenezei, dezvoltării și creșterii celulelor maligne mamare prin intermediul efectelor mitogenice și antiapoptotice. Pe de altă parte, celulele tumorale în cancerul mamar prezintă o supraexpresie a receptorilor membranici pentru insulină și factorul insulenic de creștere (IGF) [45, 47].

Nivelul înalt de insulină circulantă are o serie de efecte indirecte, inclusiv o reducere a funcției hepatice și scăderea sintezei globulinelor de transport a hormonilor sexuali ceea ce duce la o creștere de estrogen biodisponibil atât la bărbați cât și femei, și niveluri crescute de testosteron biodisponibil la femei, dar nu la bărbați. Hiperinsulinemia condiționează sinteza excesivă de androgeni în ovare și, eventual, în suprarenale la femeile aflate la premenopauză. Nivelurile crescute de steroizi sexuali endogeni sunt asociate constant cu un risc mai mare de dezvoltare a cancerului mamar și, eventual, endometrial la pacientele în post-menopauză [59, 68].

Pe lângă funcțiile sale metabolice, insulina și factorul IGF stimulează proliferarea celulelor neoplazice și apariția metastazelor. Astfel, hiperinsulinismul provoacă proliferarea și creșterea nu numai a celulelor glandulare normale, dar și a celor canceroase [115].

Așadar, diabetul zaharat tip 2 poate influența procesul neoplazic prin mai multe mecanisme, incluzând hiperinsulinemia endogenă (datorită insulinorezistenței) sau exogenă (datorită insulinei administrate sau secretate) și hiperglicemia (figura 1.2).

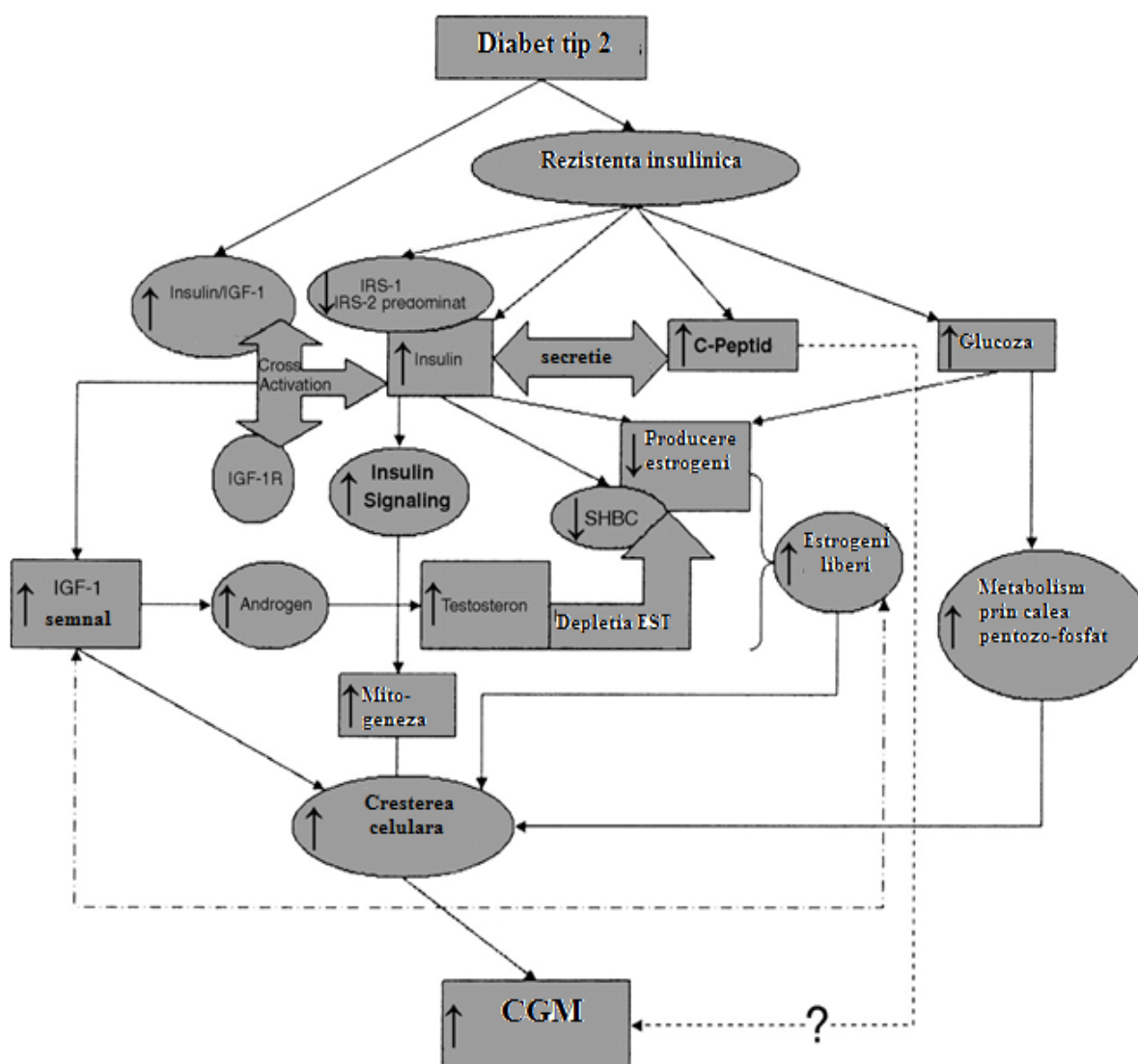


Fig. 1.2. Mecanismul interacțiunii CGM și a DZ tip 2

(IGF-I, insulina-ca factor de creștere I; IRS, substratul receptorilor de insulina, IGF-1R, IGF-I receptor; SHBC, variația hormonilor sexuali)

Sunt postulate 4 mecanisme care asociază CGM cu DZ tip 2: activarea căii insulinei; activarea căilor factorilor de creștere insulin like (IGF); reglarea hormonilor sexuali endogeni și acțiunea antiapoptozică a insulinei.

În rezultatul creșterii nivelului de insulină circulantă are loc o serie de efecte indirecte, inclusiv reducerea sintezei globulinelor de transport a hormonilor sexuali, ceea ce condiționează o creștere a estrogenilor.

Mecanismul de acțiune a estrogenilor. Atât cancerul mamar, cât și diabetul zaharat tip 2 presupune modificări în statusul hormonal al organismului, care includ insulina, factorii de creștere *insulin-like*, estrogenii și alte citokine. Interacțiunea dintre acești factori hormonalți la pacientele cu diabet joacă un rol important în carcinogeneză și poate promova apariția cancerului.

Expunerea prelungită la estrogeni pe parcursul vieți prin menarha precoce (prima menstruație înainte de vârsta de 12 ani), menopauză tardivă (peste vârsta de 54 de ani), prima naștere după 30 de ani, nuliparitatea și refuzul alăptării la sân (ultimele reduc numărul de cicluri menstruale) sunt printre cei mai importanți factori de risc stabiliți pentru cancerul mamar [157, 164]. Estrogenul, fiind hormonul răspunzător pentru creșterea și dezvoltarea glandei mamare, indiscutabil că are un rol de frunte în inițierea și evoluția cancerului mamar [97].

Funcția estrogenului este mediată cu ajutorul receptorilor de estrogeni intracelulari, care acționează ca un regulator hormondependent de transcripție. Expunerea prelungită la estrogeni stimulează atât activitatea mitogenică, cât și proliferarea celulelor și reprezintă un risc major în dezvoltarea CGM [43, 80].

Obezitatea, greutatea la naștere, modificările în IGF-I și estrogeni prezintă un sistem comun de semnalizare pentru apariția și dezvoltarea DZ tip 2. Rolul acestor factori în etiologia CGM în premenopauză și postmenopauză poate explica parțial diferența în asocierea dintre DZ și riscul de CGM [46, 49, 78]. Se știe, că DZ tip 2 apare mai frecvent după vârsta de 35 ani. S-a realizat o metaanaliză separată a tuturor studiilor, majoritatea absolută incluzând doar cazurile de DZ apărut după vârsta de 30-35 ani. Rezumatul rezultatelor a fost în favoarea consolidării ipotezei prezentate (RR 1.18; 95% CI: 1,13, 1.23), că DZ tip 2 poate promova dezvoltarea CGM prin hiperinsulinism, insulinorezistență și modificări relevante ale altor hormoni. Prin urmare, asocierea dintre DZ și CGM ar putea fi condiționată din cauza suprapunerii dereglărilor menționate ca o consecință a factorilor de risc comuni. Câteva studii au oferit perspective în această problemă, luând în considerație intervalul de timp de la diagnosticul de DZ și până la apariția CGM [42, 52, 64]. Dacă într-adevăr DZ promovează dezvoltarea CGM, ar exista un interval de timp liber etiologic relevant între diagnosticarea DZ și dezvoltarea CGM. În studiul efectuat de Prue J Hardefeldt, Senarath Edirimanne and Guy D Eslick în 2012 cancerul mamar a fost depistat peste 5-9 ani de la instalarea DZ cu un risc relativ de dezvoltare (SIR 1.9; 95%), dar nu diferă în mod considerabil de riscul relativ de apariție a CGM după 1-4 ani (SIR 1,6; 95%) [100]. În mod similar, riscul relativ pentru CGM nu devia esențial față de cel de debut al diabetului: la 5-9 ani (SIR 1,8; 95%), 10 ani (SIR 2.4; 95%), față de cel diagnosticat numai cu 1-4 ani în urma (SIR 2.3; 95%) [137].

Obezitatea, un atribut practic constant al DZ tip 2, poate reprezenta un mecanism patogenetic comun și complex pentru dezvoltarea și evoluția ambelor patologii. Țesutul adipos produce estrogeni care sunt principala sursă endogenă după menopauză. Cercetătorii demonstrează,

că obezitatea este un factor important de risc pentru CGM și în postmenopauză: paciențele cu $IMC > 31,1$ au un risc majorat de dezvoltare al CGM ($RR = 2.52$, 95% CI 1.62-3.93), comparativ cu paciențele cu $IMC < 22,6$) [6, 35]. În același timp, obezitatea este asociată cu DZ tip 2, în care adipocitokinele – peptidele biologic active – sunt corelate cu obezitatea și cu rezistența periferică la insulină [33, 34]. Astfel, estrogenii endogeni, posibil, pot să crească moderat riscul de CGM [25, 86].

O asociere directă între DZ și riscul CGM a fost observată și în studiile de tip „caz-control” ale lui Bulun S. et al. (2012), efectuate pe un trial de 19.756 paciențe și ale lui Lambe et al. (2011) - pe 5.615 paciențe, riscul global fiind foarte înalt - de 1,19 (OR 95%: 1.15, 1.23) [46, 113].

Dimpotrivă, rezultate științifice ale lui Bowker et al., (2011) efectuate pe 8.450 paciențe nu indică o asociere directă între DZ și riscul de CGM [42].

1.2 Determinantele imunologice ale cancerului glandei mamare și diabetului zaharat tip 2

Transformarea neoplazică a unei celule reprezintă prima etapă din istoria naturală a cancerului. Celula tumorală aparută determină prin diviziuni successive formarea unei clone celulare și, în final, constituie țesutul tumoral, cu exprimarea principalelor caracteristici ale fenotipului malign și anume: proliferarea excesivă și infinită, migrarea anormală și instabilitatea genetică. În mod ideal, pentru a fi recunoscute ca străine de către sistemul imun, ar trebui ca antigenele tumorale să fie exprimate doar de celulele tumorale, nu și de cele normale. În realitate majoritatea antigenelor tumorale sunt puțin imunogene, fiind slab exprimate și foarte heterogene. În același timp există și antigene supraexprimate la nivelul celulei tumorale, dar care se găsesc de asemenea în cantități mici și în celulele normale.

Antigenele tumorale recunoscute de limfocitele efectoare au fost clasificate astfel:

- *antigene străine organismului (specific tumorale)*: molecule ce sunt expresia unor gene mutante, oncogene virale, molecule ce prezintă modificări post-tranșlaționale anormale (*MUC1*-underglycosylated mucin). În cazul acestor proteine mutante doar câteva peptide pot fi potențial recunoscute ca străine organismului.
- *self-antigene*: antigene de diferențiere care se exprimă doar în anumite tipuri de țesuturi, antigene supraexprimate de celulele tumorale comparativ cu statusul lor normal;
- *antigenele fetale (AFP și CEA)*: prezente în tumori ale ficatului, gonadelor și în diverse adenocarcinoame. Se depistează în cantități crescute în timpul dezvoltării fetale, dar sunt puțin exprimate în mod normal la adult. Aceste oncogene fetale sunt folosite ca markeri de progresie tumorală;
- *HER-2/neu*, cunoscut și ca c-Erb-2 (receptor tirozin-kinazic omolog cu receptorul factorului de creștere epidermal). Răspunsul față de toate aceste antigene constă în celule efectoare CD4+ și/sau CD8+[32].

Formațiunile tumorale au proprietatea de a fi tolerate de sistemul imun prin exprimarea unor factori care influențează negativ răspunsul imun al organismului. Există o serie de motive pentru absența unui răspuns imun efectiv în cazul tumorilor. Fiecare proteină autologă este degradată în citoplasmă până la peptide formate din 9-12 aminoacizi. Aceste peptide sunt transportate de către un sistem numit „transporter associated with antigen processing (TAP)” la reticulul endoplasmic unde sunt legate de moleculele MCH clasa I și prezentate celulelor T CD8+. În cazul tumorilor peptidele nu se “potrivesc” tot timpul la locul de legare pe moleculele MCH clasa I. Existența unui mecanism defectuos de procesare a antigenelor la nivelul celulei tumorale (de exemplu, deficitul de TAP) face ca peptidele să nu fie transportate la nivelul reticulului endoplasmic și să nu fie prezentate la suprafața celulei. În multe cazuri, diminuarea moleculelor MCH (clasa I și II) de pe suprafața celulelor tumorale împiedică recunoașterea acestora de către limfocitele T și, astfel, răspunsul imun nu poate fi declanșat.

Celulele tumorale nu pot fi considerate adevărate celule prezentatoare de antigen, deoarece le lipsesc moleculele co-stimulatoare importante: CD3+ și CD4+, necesare pentru activarea celulelor T. În absența co-stimulării, prezentarea peptidelor spre complexul MCH, conduce la anergia celulelor T și toleranță. Unele celule tumorale sunt capabile de a stopa producerea de antigene, evitând astfel răspunsul imun. De asemenea, tumorile pot produce substanțe imunosupresive așa cum sunt IL-10, TGFβ (transforming growth factor beta), prostaglandine, iar în unele cazuri, celulele tumorale pot exprima molecule MCH I-like ce interacționează cu liganzii inhibitori aflați pe celulele T, ducând la anergia/apoptoza celulelor T.

Tumorile maligne ale CGM sunt caracterizate prin instabilitate genomică, ceea ce conduce la generarea unor neoepitopi identificați potențial de moleculele MCH clasa I și II. În ultima decadă s-a observat un interes crescut față de mecanismul dominant de toleranță mediat de celulele T reglatoare – *Tregs* (CD4+CD25+), ce pare să joace un rol important în autoreactivitate, alergii, infecții și transplant, controlând atât răspunsul imun înăscut, cât și pe cel dobândit, limitând astfel autoimunitatea și imunopatologia. Selecția acestor celule are loc în mod natural în timus – *natural T regulatory cells* (*nTreg*), dar pot fi induse și la periferie – *induced Treg cells* (*iTreg*). Efectul supresor al celulelor *Treg* asupra răspunsului imun tumoral este bine documentat. În studiile efectuate pe pacienții cu cancer mamar s-a observat prezența mult mai frecventă a celulelor *Treg* în populația limfocitară periferică, decât la persoanele sănătoase. Există, de asemenea, relații din care reiese faptul, că nivelele crescute de *Treg* corelează cu un stadiu avansat al maladiei, fiind implicate, astfel, în progresia cancerului. Infiltrarea celulelor T reglatorii este prezentă numai în ganglionii limfatici regionali afectați metastatic [12].

Răspunsul imun înăscut are rolul de a recunoaște celulele “stresate” sau conținutul celular “nedigerat”, atunci când celulele devin nonapoptotice sau nonautofagocitice. Răspunsul imun

adaptativ (dobândit) joacă un rol crucial, fiind o sursă bogată de celule T efectoare CD4 și CD8 cu rol în recunoașterea proteinelor aberante ce apar la nivelul tumorii, fiind sursa unor celule regatoare și a unor factori cu rol important în limitarea abilității celulelor NK și a celulelor T de a media eradicarea cancerului. Modul în care diferitele tipuri de celule implicate în generarea răspunsului imun influențează în sens pozitiv sau negativ creșterea tumorală (după Gallimore AM și Simon AK, 2011) este prezentat în tabelul 1.1.

Celulele NK ("Natural Killer" CD16+) sunt componente ale sistemului imun înăscut, având rol important în apărarea împotriva infecțiilor virale și dezvoltării tumorale. Celulele NK reprezintă 5-20% din celulele mononucleare din sânge și splină, fiind definite prin prezența antigenului CD16/CD56 și lipsa CD3. Recent s-a constatat, că populația NK este eterogenă, cuprinzând subseturi CD56bright și CD56dim (CD56dim/neg) cu proprietăți fenotipice și funcționale distincte. Subsetul CD56bright reprezintă 10% din NK circulante și se caracterizează prin fenotip CD16+/-, CD57-, activitate citolitică redusă și puține granule citotoxice. Predomină în mai mult de 90% în ganglionii limfatici, în zona celulelor T și în tonsile.

Subsetul NK-CD56 este majoritar în sângele periferic (>95%) și în splină (>85%), prezentând fenotip CD16+, CD57+, perforină, receptori de citotoxicitate naturală (NCR: NKp30 și NKp46) și granule citolitice din abundență.

CD3 este un receptor membranar cu structură complexă, situat lângă receptorul TCR, care face transducția semnalului activator primit de TCR spre interiorul LT. CD3 este format din cinci lanțuri scurte: gama, delta, epsilon, eta, zeta. Domeniul intracitoplasmatic al lanțului zeta are funcție de PTK (proteinkinază). Această enzimă fosforilează în prezența ATP unele proteine și le modifică activitatea. Toate cele 7 lanțuri din complexul TCR-CD3 (două ale TCR și cinci ale CD3) se asociază prin punți disulfurice sau prin legături necovalente. Ele formează un complex unitar care transmite stimulul activator în interiorul limfocitelor T.

CD4 este un coreceptor care participă la recunoașterea antigenică asociativă. CD4 este receptorul de suprafață sau markerul caracteristic pentru LTH. CD4 are un segment intracitoplasmatic, un segment transmembranar și un segment extracelular. Segmentul extracelular al CD4 are trei domenii sau bucle de mărime diferită. Prin bucla exterioară N-terminală, CD4 se leagă de domeniul monomorf al MHC II, care este domeniul a2. Segmentul intracitoplasmatic al CD4 este foarte lung. El participă la activarea metabolică a LTH, prin activarea unor enzime intracelulare.

CD8 este un coreceptor care participă la recunoașterea antigenică asociativă. El se găsește mai ales pe LTC, dar poate fi depistat și pe LTS, CD8 este marker definitoriu pentru LTC. CD8 are două lanțuri: *a* și *b*. Fiecare dintre lanțuri are un segment intracitoplasmatic, un segment transmembranar și un segment extracelular. Cele două segmente extracelulare au câte un domeniu. Cele două domenii se asociază și au un aspect *Ig-like*.

Tabelul 1.1. Modalitatea de generare a răspunsului imun la creșterea tumorală [75].

Celule efectoare	Inhibarea creșterii tumorale Favorizarea creșterii tumorale	Acțiunea supresivă a celulelor T reg. asupra celulelor efectoare
T CD8+	-citotoxicitate prin perforină /granzimă sau ligandul Fas/Fas - secreția de IFN γ , TNF α	supresie prin TGF β
T CD4+	- inițiază activarea celulelor CD8+ - citotoxicitate prin ligandul Fas/Fas - ajută celulele B - inhibă angiogeneza - activează macrofagele prin secreția de IFN γ - recrutează eozinofilele prin secreția de IL-4	cele mai multe teste funcționale de supresie utilizează celulele CD4+
B CD19+	- produc anticorpi antitumorali - prezintă antigenele tumorale - inițiază creșterea tumorală cu ajutorul factorului solubil	supresie directă asupra celulelor B fără supresia celulelor Th
NK	- citotoxicitate prin granzime/perforine sau ligandul Fas/Fas- exprimă FcR pentru a media ADCC (citotoxicitate celulară dependentă de anticorpi)	- suprimă activitatea citotoxică- există o corelație inversă între activarea NK și numarul de celule Treg la pacienții cu neoplasme
NKT	- produc citokine, stimulează celulele NK si celulele CD8+ acțiune citotoxică- inhibă celulele Th1 si T CD8+ prin IL- 3	suprimă secreția de citokine și activitatea citotoxică a celulelor NKT

Ele participă la cooperarea dintre LTC sau LTS și APC. În timpul cooperării, segmentul extracelular al CD8 se leagă de domeniul monomorf al MHC I, care este e3. Segmentul intracitoplasmatic al CD8 este foarte lung. El participă la activarea metabolică a LTC și LTS, prin activarea unor enzime intracelulare.

Astfel, starea sistemului imun la pacienții cu cancer în asociere cu DZ este caracterizată prin imunodeficiență secundară, cu diferite grade de manifestare, cu o reducere a tuturor nivelurilor imunității antiinflamatorii și se depistează la majoritatea pacienților. Dereglarea imunității afectează aproape toate părțile componente ale sistemului imun [12].

Se apreciază și activitatea fagocitară joasă a neutrofilelor, scăderea producerii de anticorpi. Numărul absolut al celulelor-T, de regulă, tinde să scadă, numărul celulelor T-supresoare este majorat, de asemenea, și activitatea lor este mărită considerabil, scade numărul de celule T-helper și activitatea lor funcțională. Se inhibă proliferarea celulelor stem și încetinesc procesele de diferențiere [28]. În așa mod, se observă o scădere a indicilor imunității umorale naturale și dobândite, la fel și a activității fagocitare a neutrofilelor [33].

1.3 Viziuni contemporane asupra rolului factorului ereditar al cancerului mamare asociat cu diabet zaharat tip 2.

În țările occidentale, din opt femei care au atins vârsta de 90 de ani, una este purtătoarea unui cancer mamar perceptibil clinic sau aflat într-un stadiu subclinic. Probabilitatea dezvoltării unui cancer mamar pe parcursul duratei medii de viață a femeii se cifrează la 7 - 8%. Riscul apariției cancerului mamar crește după vârsta de 50 de ani, atingând valoarea maximă la 75 de ani. Între 50 și 70 de ani, riscul îmbolnăvirii este de aproximativ 5%, iar rata mortalității depășește valoarea de 1% [25, 137].

Se știe, că marea majoritate a cazurilor de cancer mamar sunt sporadice. Proporția fracțiunii ereditare a neoplasmelor mamare cu mutații genetice este de aproximativ 8 - 12% [26, 130]. Istoricul familial pozitiv este prezent doar la 5% dintre bolnave dar, e necesar de remarcat, cazurile familiale ale căror rude prezintă exclusiv tumori mamare nu constituie decât jumătate din totalul cazurilor, cealaltă jumătate cuprinzând cazuri apărute în familii în care s-au înregistrat pe lângă cancer mamar, tumori maligne ale altor organe: ovare, endometriu, colon, creier, țesuturi conjunctive etc. [103, 108].

Astfel, sindromul ereditar CGM și ovarian (HBOC = hereditary breast-ovarian cancer syndrome) are la bază o predispoziție genetică de a dezvolta această patologie și se caracterizează prin: existența într-o familie a mai multor cazuri de cancer mamar, ovarian sau a ambelor forme; asocierea la aceeași persoană a ambelor forme de cancer; cancer mamar cu debut precoce.

Numeroase studii efectuate au demonstrat, ca mutațiile în genele BRCA1 (Breast Cancer 1 Gene) și BRCA2 (Breast Cancer 2 Gene) care afectează linia germinală, sunt responsabile de marea majoritate a cancerelor ereditare - mamar și ovarian [31].

Gene supresoare ale tumorilor, BRCA1 și BRCA2, sunt acelea care codifică proteinele în procesele de reparare a ADN-ului. Au fost comunicate relatări de peste 1200 mutații ale genei BRCA1 și peste 1300 mutații ale genei BRCA2. Deși persoanele cu HBOC moștenesc o alelă defectuoasă BRCA1 sau BRCA2 de la unul dintre părinți, aceștia prezintă o a doua alelă funcțională; în cazul în care și cea de-a doua alelă devine nefuncțională se dezvoltă procesul neoplazic, având loc acumularea mutațiilor adiționale. Se estimează, că prevalența mutațiilor BRCA în populația generală este de 1/300 – 1/800. În populațiile întemeiate de un grup incestual mic, anumite mutații BRCA1 sau BRCA2 se pot întâlni mai frecvent și sunt denumite „mutații fondatoare”. Aceste tipuri de mutații au fost identificate predominant la evreii Ashkenazi (din Europa de Est), canadienii francezi și la islandezi. Așa maladii se dezvoltă mai precoce (25% din cazurile diagnosticate până la 35 de ani sunt ereditare), iar tumorile afectează, frecvent, ambele glande mamare [60, 65, 31].

Până la sfârșitul anilor 80, cunoștințele despre existența predispoziției genetice în dezvoltarea tumorilor mamare se limitau la recunoașterea faptului că în unele familii cel puțin două femei aparținând aceleiași generații dezvoltau cancer mamar sau ovarian. Se cunoaște, de asemenea, că riscul apariției CGM la o femeie ale cărei rude de gradul I (mama, sora, fiica) aveau cancer mamar sau ovarian, îl depășea de 2-3 ori pe cel înregistrat în populația generală [89].

Antecedentele familiale au un rol foarte important în dezvoltarea cancerului ovarian, deși 44% dintre pacientele cu cancer ovarian seros de grad înalt și mutație BRCA a liniei germinale dintr-un studiu recent nu au raportat un istoric familial de cancer [89]. Femeile care au o rudă de gradul întâi cu acest tip de cancer prezintă o creștere de peste două ori a riscului de cancer ovarian, în comparație cu femeile care nu au acest istoric familial. Totuși, numai 10% dintre cazurile de cancer ovarian prezintă o mutație genetică identificabilă, de exemplu mutațiile predispozante ale genelor BRCA1 și BRCA 2. O mutație BRCA 1 transmisă ereditar conferă un risc de 15%-45% de apariție a cancerului ovarian pe toată durata vieții și un risc $\leq 85\%$ de apariție a cancerului mamar. O mutație BRCA 2 crește riscul de apariție a cancerului ovarian pe toată durata vieții până la 10%-20%, iar riscul de cancer mamar este $\leq 85\%$. Femeile cu cancer ovarian ereditar au tendința de a dezvolta boala cu aproximativ 10 ani mai devreme decât cele cu forme sporadice ale bolii. Nu există ghiduri clare de testare genetică a pacientelor cu cancer ovarian. Această recomandare este formulată pe baza istoricului familial și a apartenenței etnice. Identificarea mutațiilor BRCA a devenit tot mai importantă deoarece, în afara intervențiilor chirurgicale de reducere a riscului și a monitorizării pacientei și a familiei acesteia pentru identificarea cancerului mamar, în prezent apar terapii noi care se adresează în mod specific cancerelor asociate cu mutațiile BRCA [116].

Studiile epidemiologice în domeniul geneticii și cele de clonare pozițională întreprinse în anii 1990-1995 au îmbogățit considerabil cunoștințele despre predispoziția la neogeneza mamară. Au fost create premise ale cuantificării riscului unei femei cu antecedente familiale de cancer mamar de a dezvolta, la randul ei, o tumoră a aceluiași organ. Analiza înlănțuirii genetice urmărește să stabilească cosegregarea maladiei cu markerii ADN-ului a căror poziție este cunoscută, scopul fiind localizarea genomică a genei morbide. Utilizându-se aceasta metodă, s-a reușit cartografierea a trei gene, ale căror mutații se fac răspunzătoare de constituirea predispoziției la dezvoltarea CGM. Cele trei gene au primit denumirea de BRCA1, BRCA2, BRCA3 și au fost localizate pe cromozomii 17q21, 13q12-13 și respectiv 8p [26, 31].

Gena BRCA1, de studierea căreia ne-am preocupat, este localizată la nivelul cromozomului 17q21, formată din 22 de exoni și codifică o proteină de 1863 de aminoacizi. Proteina BRCA1 este o fosfoproteină nucleară cu rol important în menținerea stabilității genomice și în supresia tumorală; împreună cu alte proteine supresoare ale tumorilor sau cu rol în transmiterea semnalului celular, formează un complex cu subunități multiple denumit BASC (BRCA1-associated genome surveillance complex); de asemenea se asociază cu ARN-ul polimeraza II, intervenind astfel în transcripție, repararea ADN-lui dublu catenar, precum și în recombinare [116].

Mutațiile genei BRCA1, ce conduc la erori în replicarea ADN-ului și proliferarea necontrolată a celulelor epiteliale, sunt răspunzătoare de aproximativ 40% din cazurile de cancer mamar ereditar și mai mult de 80% din cazurile de cancer mamar și ovarian ereditare.

Splicing-ul alternativ deține rol în modularea localizării moleculare și funcționarea normală a genei BRCA1. Au fost descrise mai multe variante de produși de transcripție unele fiind asociate cu mutații ce provoacă boala. A mai fost identificată și o pseudogenă, localizată tot pe cromozomul 17. În literatura de specialitate este menționat faptul, că aceeași regiune de pe cromozomul 17 conține o duplicație în tandem (YBRCA1), de aproximativ 30kb, care duce la apariția a 2 copii ale exonilor 1 și 2 ai BRCA1, ale exonilor 1 și 3 ai genei adiacente denumită 1A1-3B, precum și a unei regiuni intergenice de 295 bp. Prin secvențiere s-a demonstrat, că acești exoni duplicați constituie pseudogene neprocesate [33].

Un alt element caracteristic genei BRCA1 îl constituie secvențele *Alu repetitive*. Au fost identificate 45 de rearanjări genetice, care includ deleții și duplicații într-unul sau mai mulți exoni. Genomul uman conține peste 1 milion de copii de elemente Alu (un element la fiecare 5kb), care aparent mediaza rearanjarile cromozomiale și recombinarea omoloagă, rezultând duplicații, inversii sau deleții. Aproximativ 41,5% din secvențele intronice ale genei BRCA1 sunt constituite din elemente Alu, privite de multe ori ca factori genetici de instabilitate [31, 130].

Istoricul familial reprezintă o condiție non-modificabilă de risc pentru dezvoltarea CGM, manifestând unele asociații familiale și genetice [18, 116]. Cercetarea intensă atât în oncologie

experimentală, cât și biologie moleculară din ultimele decenii a extins foarte mult cunoștințele despre factorii genetici care predispun la dezvoltarea cancerului mamar și înțelegerea mecanismelor genetice ale carcinogenezei.

Forme determinate genetic pot fi presupuse în cazurile în care se identifică două sau mai multe rude de gradul I-II, vârsta precoce la debutul maladiei (varsta 35-45 de ani), CGM bilateral, cancer primar multiplu la pacientă sau rudele ei [7].

A fost demonstrat, că cancerul mamar asociat cu modificări în gena BRCA1, în comparație cu cel sporadic, este caracterizat prin grad înalt de malignitate, o incidență crescută a tumorilor estrogen și progesteron-negative, frecvență mai mare a formelor morfologice rare, patomorfismului terapeutic pronunțat până la regresie totală [33, 89, 101].

Actualmente se constată o careva interdependență genetică între dezvoltarea CGM la pacientele cu DZ, dar aceste relații nu poartă un caracter sistematizat [93, 176, 178].

1.4 Particularitățile clinico-morfologice și aspecte de tratament ale cancerului glandei mamare asociat cu diabetul zaharat tip 2

Către mijlocul anilor '80 ai secolului trecut la mulți cercetători s-a creat impresia că dacă CGM se asociază cu DZ tip 2, atunci evoluția ulterioară a procesului oncologic ar putea fi mai puțin agresivă, cu perioadă prolongată fără recidive și metastaze. În pofida faptului că "rolul pozitiv" al DZ în CGM ar părea explicabil (s-ar presupune că asemenea formațiuni ar răspunde mai eficace la tratamentul hormonal), se constată că există mai mulți factori care ar controversa un asemenea concept. În afară de aspectele hormonale și metabolice (inclusiv componența steroidiană), se poate atribui și micșorarea reactivității imune, reducerea rezistenței antitumorale, alterarea manifestă a ADN-ului (atât nuclear, cât și mitocondrial), acțiunea asupra proceselor de angiogeneză și metastazare. Se va lua în considerație și inducerea comorbidității asociate cu dereglările metabolismului glucidic: patologia cardio-vasculară și renală [113, 143].

Datele literaturii de specialitate demonstrează cert rolul primordial al acțiunii proliferative a hormonilor steroizi ovarieni (de la debutul menarhei până în perioada de menopauză) asupra epiteliului glandei mamare. În așa mod, devierile fiziologice ale nivelului concentrației de estrogen-progesteron contribuie la un risc sporit în declanșarea CGM. Menopauza tardivă - după 55 ani - dublează riscul dezvoltării CGM, comparativ cu menopauza precoce - până la 45 ani [97, 157].

Conform altor păreri, pacientele cu CGM și DZ cu funcția menstruală păstrată, mai frecvent prezintă tumori ce nu conțin receptori progesteronici (cu fenotipul ER+ și PR-) [164].

Alți savanți menționează, că hiperinsulinemia (un marker al insulinorezistenței), la aceeași localizare tumorală crește riscul progresării și, respectiv, al deceselor în primii 5 ani ai supravegherii

prospective. DZ preexistent condiționează frecvența crescută a complicațiilor postoperatorii și se soldează cu o micșorare a supraviețuirii de 5 ani [115, 162].

Fleming et al., și Srokowski et al. au constatat, că răspândirea procesului malign al CGM la paciente cu DZ tip 2 față de omologii lor nondiabetici, estimează o interdependență directă cu un risc majorat de depistare în stadiu mai avansat al maladiei (OR, 1.17; 95% CI, 1.08 - 1.27) ($p < 0.0001$) [71, 155]. Lipscombe LL et al., 2015, în studiul său au realizat, că pacientele cu CGM și DZ tip 2 au fost diagnosticate mai frecvent în stadii avansate ale procesului, comparativ cu pacientele fără DZ (19% vs 12%) [124].

În prezent, evoluția CGM se bazează pe factorii tradiționali predictivi și de prognostic, precum tabloul clinic, tipul morfopatologic și factorii biologici (expresia receptorilor hormonali și a proteinei HER2/neu). Anume diversitatea tipurilor imunohistochemice ale tumorilor condiționează evoluția nefavorabilă a procesului malign cu apariția de metastaze locoregionale și la distanță (în special în primii 5 ani), supraviețuire redusă și o rată de mortalitate relativ înaltă [55, 71, 127].

Studiile anterioare au demonstrat, că fenotipul imunohistochimic este un marker independent de prognostic la pacientele cu cancer mamar atât la cele cu afectarea ganglionilor limfatici regionali, cât și fără afectarea acestora. S-a observat, că gradul III de diferențiere al tumorilor maligne prezice o evoluție agresivă la pacientele cu CGM chiar și fără invazie ganglionară. În plus, tumorile manifestă un *pattern* specific de diseminare la distanță, având o predilecție pentru metastazele viscerale, cerebrale și pulmonare, asociate cu un prognostic sumbru [87, 92, 111].

Așadar, examenul morfopatologic și imunohistochimic rămâne a fi standardul de aur în diagnosticul CGM la pacientele cu DZ tip 2, ținând cont de particularitățile etiopatogenetice, clinice și, în cele din urmă, ale evoluției și prognosticului maladiei [92, 135].

Particularități de tratament al pacientelor cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2.

Tratamentul cancerului mamar este prezentat de măsuri complexe, multidisciplinare, care au suferit în lungul timpului o evoluție impresionantă, datorită progreselor realizate în studierea particularităților biologice a tumorii, precum și a diversificării metodelor aplicate. Metodele de tratament specific utilizate în CGM includ: metoda chirurgicală, chimioterapeutică, radioterapeutică și hormonală. Indicațiile și etapizarea acestor procedee terapeutice depind de răspândirea procesului, de vârsta pacientei, de tipul imunohistochemic al tumorii și, nu în ultimul rând, de patologia concomitentă a organismului [77, 162].

Particularitățile tratamentului chirurgical al pacientelor cu CGM și DZ tip 2

Tratamentul chirurgical rămâne și astăzi pilonul principal în algoritmul terapeutic al CGM, dar momentul operator și tipul de intervenției chirurgicale practicat au suferit în lungul timpului modificări conceptuale.

În funcție de volumul tratamentului chirurgical al CGM se deosebesc următoarele tipuri de intervenții chirurgicale: mastectomie radicală de diferite tipuri (Madden, Patey, Halsted etc), mastectomie simplă, mastectomie paliativă, operație organomenajantă (cu limfadenectomie regională a ganglionilor limfatici nivelul I-III), rezecție sectorală simplă și tumorectomie.

În funcție de timpul efectuării tratamentului chirurgical intervențiile pot fi: programate, de urgență sau urgență amânată (ultimile fiind efectuate conform indicațiilor vitale, în cazul hemoragiilor active și/sau distrucției tumorale).

Tratamentului chirurgical al pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 rămâne a fi o problemă constantă. Paciente cu CGM asociat cu DZ tip 2 prezintă o serie de particularități, care complică perioada perioperatorie:

- patologia de bază inițiază trecerea DZ latent în DZ manifest;
- reacțiile inflamatorii sistemice conduc la dezvoltarea hiperadrenalinemiei și acidozei, decompensând DZ preexistent;
- funcțiile compromise ale ficatului, rinichilor, sistemului de coagulare condiționează predispunerea către dezvoltarea sindromului CID și a trombozelor;
- DZ concomitent agravează constant evoluția patologiei chirurgicale;
- predispunerea către dezvoltarea complicațiilor septico-purulente;
- limforee abundentă și prelungită în majoritatea absolută a cazurilor cu vitalizarea precară a plăgilor postoperatorii;
- tergivesarea și/sau restricționarea tratamentului adjuvant postoperator;
- durată prelungită de spitalizare cu dezavantajul economic considerabil.

Răspunsul metabolic la actul anestetico-chirurgical influențează toate sistemele de reglare, majorându-se concentrația hormonilor de contrareglare (cortizol, catecolamine, glucagon, hormonul de creștere; citokinele) cu micșorarea secreției de insulină, inducerea hiperglicemiei, activarea glicogenolizei și gluconeogenezei, intensificarea catabolismului prin proteoliză și lipoliză, formarea de corpi cetonici, creșterea metabolismului bazal [129].

Complicațiile ce pot surveni în rezultatul actului anestetico-chirurgical și pot influența rezultatele imediate și la distanță sunt următoarele:

- metabolice (cetoacidoza diabetică, coma diabetică hiperosmolară, acidoza lactică, hipoglicemia);
- tulburări electrolitice (hipopotasemie, hiperpotasemie);
- cardiovasculare (hipotensiunea arterială, crize hipertensive, aritmii, infarct miocardic, edem pulmonar acut);
- renale (insuficiență renală acută, agravarea insuficienței renale cronice);

- infecțioase (supurarea plăgilor postoperatorii, limforee prelungită), etc.

Totalitatea problemelor enunțate impune realizarea unui complex de măsuri, privind pregătirea perioperatorie în cadrul procedurilor diagnostice și curative, selectarea tipului intervențiilor chirurgicale și a volumului optim al tratamentului chirurgical la pacienții cu CGM și DZ tip 2.

Unele studii științifice au demonstrat, că pacienții cu DZ au beneficiat de tipuri de intervenții chirurgicale mai reduse, uneori chiar modificate, comparativ cu omologii lor nondiabetici. În studiul realizat de van de Poll-Franse et al 2012, pacienții cu CGM și DZ cu vârsta de 35 - 65 de ani au beneficiat de tratament chirurgical în volum mai redus, față de pacienții fără diabet (1.01-5.38; 2.32; 95% CI, $p < 0,05$) [162]. De asemenea, pacienții cu DZ tip 2 insulinonecesitant (forme subcompensate sau decompensate) mai rar au fost supuse tratamentului chirurgical radical, care include și limfadenectomia regională, față de omologii lor nondiabetici [163].

Particularitățile tratamentului chimioterapic la pacienții cu CGM și DZ tip 2

Chimioterapia neoadjuvantă (preoperatorie) are ca scop micșorarea volumului tumoral și diminuarea riscului de diseminare a celulelor maligne în timpul actului chirurgical. Este indicată în tratamentul cancerului mamar în stadiile evolutive incipiente, precum și în unele stadii local avansate (IIB și IIIA), stadii în care este posibilă intervenția chirurgicală cu intenție de curativitate oncologică [97, 99].

Există opinii controversate referitor la necesitatea modificării schemelor de tratament și a dozelor preparatelor administrate pacienților ce suferă de cancer mamar asociat cu diabet zaharat. Se cunoaște, că o regresie a creșterii tumorale se poate obține în cazul administrării unei doze $>85\%$ de preparate chimioterapice programate [162].

Preparatele chimioterapice se elimină prin sistemul renal și pot condiționa și agrava nefropatia diabetică (derivații platinei), prezintă efecte cardiotoxice (antracilinele, trastuzumab) sau pot condiționa neuropatii (derivații platinei, taxanii, vincaalcaloizii).

Srokowski et al au evidențiat, că numărul pacienților cu DZ tratați cu antraciline (0,78; 95% CI, 0.71 - 0.87) și taxani (0,86, 95% CI, 0.75 - 0.99) a fost cu mult mai redus, comparativ cu pacienții fără diabet [155].

Toate complicațiile menționate ar trebui să condiționeze micșorarea dozelor preparatelor chimioterapice, prin urmare să reducă rezultatele tratamentului și supraviețuirea la distanță. Pe de altă parte, dacă dozele preparatelor chimioterapice nu se vor coreja, se pot acutiza complicațiile diabetice, cu aceleași efecte asupra supraviețuirii la distanță [155].

Unele complicații specifice tratamentului chimioterapic (leuco-sau trombocitopenia, diareea etc.) la pacienții cu DZ pot decurge într-o formă mai gravă, iar administrarea preparatelor chimioterapice pot stimula hiperglicemia. Administrarea concomitentă a chimioterapiei cu preparatele corticosteroide poate conduce, în unele cazuri, la dezvoltarea diabetului steroid , care

ulterior necesită administrarea insulinei. În cazul respectiv se va lua în considerație tipul steroidului, modul de administrare, durata tratamentului și doza sumară a preparatului. Importanța controlului “asocierii corticosteroide” actualmente considerabil crește, deoarece tot mai frecvent chimioterapia se combină cu doze mari de dexametazon, ce are un impact negativ asupra metabolismului glucidic [143].

Particularitățile tratamentului radioterapic la paciențele cu CGM și DZ tip 2

Radioterapia neoadjuvantă are anumite indicații, care diferă în funcție de: răspândirea procesului, localizarea acestuia în cadranele glandei mamare, vârstă, patologia concomitentă a pacientei și de metodele de tratament planificate [77].

Iradieră glandei mamare sau a cicatricii postoperatorii și a zonelor ganglionare regionale efectuată în scopuri curative este unul din modificatorii potențiali ai metabolismului glucidic și impune o vigilență sporită în deosebi la paciențele cu DZ.

În studiul efectuat de Van de Poll-Franse et al 2012, paciențele cu CGM și DZ cu vîrsta >65 ani în comparație cu omologii lor nondiabetici, au prezentat mai puține șanse pentru a primi radioterapie din considerentele complicațiilor cardio-neuro-nefrotoxice (0,73, 95% CI, 0.60 - 0.88) [162, 163].

Hormonoterapia ca metodă de tratament a pacientelor cu cancer mamar

Tratamentul pacientelor cu CGM include și utilizarea hormonoterapiei cu scopul minimizării concentrației estrogenilor și efectelor estrogenice în organism. Apare întrebarea dacă prezența DZ modifică eficacitatea acțiunii antitumorale a hormonoterapiei și dacă există vreo influență asupra evoluției acestuia? În literatura de specialitate problemele respective nu sunt definitiv elucidate. Din datele științifice studiate se poate de rezumat, că metabolismul Tamoxifenului la paciențele cu DZ nu se modifică considerabil și se poate de administrat în doze uzuale [68].

Alți savanți în domeniu au stabilit, că la paciențele cu CGM și DZ care administrează Tamoxifen persistă un risc majorat de progresare a maladiei, versus lotul care nu suferă de DZ Există păreri, că la paciențele cu CGM și DZ tip 2 Tamoxifenul majorează considerabil dezvoltarea proceselor hiperplastice ale endometriului, față de paciențe cu CGM ce nu suferă de DZ [42, 73]. Unii autori relatează, ca administrarea Tamoxifenului la paciențele cu diabet zaharat ar condiționa apariția mai frecventă a tromboemboliilor și administrarea acestuia ar fi contraindicată [162].

1.5. Concluzii la capitolul 1

1. Printre multiplele studii științifice ce vizează modalitățile de asociere a CGM-DZ tip 2 sunt doar relatări sporadice, nesistematizate, care ar relata careva particularități la aceasta categorie de paciențe. În cazurile asocierii CGM și a DZ tip 2 rămân a fi elucidate parțial și incomplet așa particularități cum ar fi: imunitatea specifică și nespecifică, particularitățile clinice, răspândirea loco-regională a

proceselor maligne, caracteristicile morfopatologice și imunohistochimice ale tumorilor, gradingul tumoral, gradul de raspuns al tumorilor la tratamentul neoadjuvant și corelarea cu factorul genetic. Cunoașterea elementelor sus-menționate ar prezenta o posibilitate reală în individualizarea tratamentului proceselor neoplazice asociate cu DZ tip 2.

2. În conformitate cu datele științifice în domeniu, care relatează despre minimalizarea sau chiar refuzul tratamentului specific la aceste paciente (din cauza numărului mare de complicații), se impune modificarea schemelor standarde de tratament la toate etapele. Actualul studiu științific pe care l-am inițiat este necesar pentru înțelegerea dependenței etiopatogenetice între CGM și DZ, a corelației formelor clinico-morfologice ale cancerului mamar cu durata și gravitatea diabetului zaharat și a interacțiunii imuno-genetice posibil existente.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a metodologiei de cercetare și designul studiului.

Studiul reprezintă o analiză complexă, structurală și prospectivă a datelor clinice, anamnestice, imuno-genetice și morfopatologice a 246 paciente cu CGM investigate și tratate în IMSP IO în perioada anilor 2010-2014.

Pacientele investigate au fost divizate în 2 loturi: lotul I (lotul de bază) a fost format din 107 paciente cu CGM asociat cu DZ tip 2 și 139 paciente cu CGM fără DZ, care au format lotul II (lotul de control). Vârsta medie a pacienților incluse în studiu a constituit $57,56 \pm 0,21$ ani.

Determinarea genei BRCA1 s-a efectuat la 108 paciente, dintre care la 64 paciente cu CGM și DZ tip2 și la 44 paciente numai cu CGM. Loturile au fost divizate în grupuri în funcție de prezența mutației BRCA 1 5382 ins C: lotul I (CGM asociat cu DZ) – în grupul A - paciențele cu prezența mutației majore BRCA1 5382 ins C, grupul B – paciențele fără mutație respectivă; lotul II (CGM nondiabetice) – în grupul C – paciențele cu prezența mutației majore BRCA1 5382 ins C, grupul D – paciențele fără mutație genetică.

Pacientele ambelor loturi au fost divizate în dependență de tratamentul specific administrat atât pentru cancerul mamar, cât și pentru diabetul zaharat.

Pentru cancerul mamar:

- fără tratament neoadjuvant;
- cu tratament neoadjuvant (PCT, RT, PCT și RT);
- cu tratament chirurgical (mastectomie radicală/paliativă, operație economă, rezecție sectorală).

Pentru diabetul zaharat:

Tratament cu insulină;

1. Tratament cu metformină;
2. Lipsa tratamentului medicamentos specific;

La 82 paciente (51 paciente cu CGM și DZ tip 2 și 31 - cu cancer mamar fără DZ tip 2) s-a determinat nivelul glicemiei atât în plasmă sangvină, cât și în limfa din plăgile postoperatorii. Grupurile au fost omogenizate conform răspândirii proceselor maligne (stadiul II b) și volumului intervențiilor chirurgicale. S-a apreciat nivelul glicemiei în serul sangvin și conținutul limfatic al plăgii la a 7- 10 zi postoperator.

Pacientele au fost investigate și tratate în secțiile de mamologie nr. 1 și nr. 2, chimioterapie, radioterapie, laboratorul imuno-genetic și morfopatologic și cabinetele de profil ale CCD al IMSP Institutul Oncologic. Investigațiile genetice au fost efectuate în Laboratorul de referință în microbiologie din cadrul Centrului Național de Sănătate Publică.

Conform cerințelor actuale, pacientele au fost incluse în studiu în baza criteriilor de includere și 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 și cirozele;
3. Tratament cu glucocorticosteroizi (nu mai mult de 2,0 mg/kg/corp în ultimele 10 zile);
4. Tratamentul chimioterapic și radioterapic neoadjuvant efectuat ultimele 21 zile;
5. Patologia cardiacă și pulmonară decompensată;
6. Insuficiența 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, fișele medicale și datele din cartele de ambulator. În scopul procesării statistice au fost elaborate chestionare speciale în care au găsit codificare datele clinice și paraclinice ale pacientelor investigate.

Tipul de cercetare și designul studiului

Pentru a realiza scopul și obiectivele cercetării este planificat **studiul clinic controlat**.

Pentru a determina unele aspecte imuno-genetice și clinico-morfologice la pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 numărul necesar de unități de observație s-a calculat după următoarea formula (formula 2.1):

$$n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2 \times (Z\alpha + Z\beta)^2 P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2} \quad (2.1)$$

unde:

P_0 = Proporția pacientelor cu cancer glandei mamare asociat cu diabet zaharat tip 2. Conform datelor bibliografice la acestea paciente apar dereglări imunogenetice și clinico-morfologice în mediu în 55, 0% cazuri ($P_0=0,55$)

P_1 = Proporția pacientelor cu cancer glandei mamare fără diabet zaharat tip 2 la care dereglări de acest ordin vor apărea în 25,0% cazuri ($P_1=0,25$);

$$P = (P_0 + P_1)/2 = 0,40;$$

$Z\alpha$ – valoarea tabelară. Când „ α ” – pragul de semnificație este de 5,0% , atunci coeficientul $Z\alpha = 1.96$;

Z_{β} – valoarea tabelară. Când „ β ” – puterea statistică a comparației este de 80,0%, atunci coeficientul $Z_{\beta} = 0,84$;

f = Proporția persoanelor posibil să abandoneze studiului din diferite motive în afară de efectul investigat $q = 1/(1-f)$, $f=10,0\%$ (0,1);

În așa fel, am obținut numărul pacienților care era necesar de inclus în studiu: în lotul I - 77 pacienți, în lotul II - 99 pacienți. Numărul pacienților din ambele loturi a fost majorat cu 30 % pentru veridicitate maximală a rezultatelor.

Paciențele incluse în studiu au fost examinate clinic și paraclinic, cu utilizarea chestionarelor individuale specifice nozologiilor cercetate conform design-ului elaborat (figura 2.1).

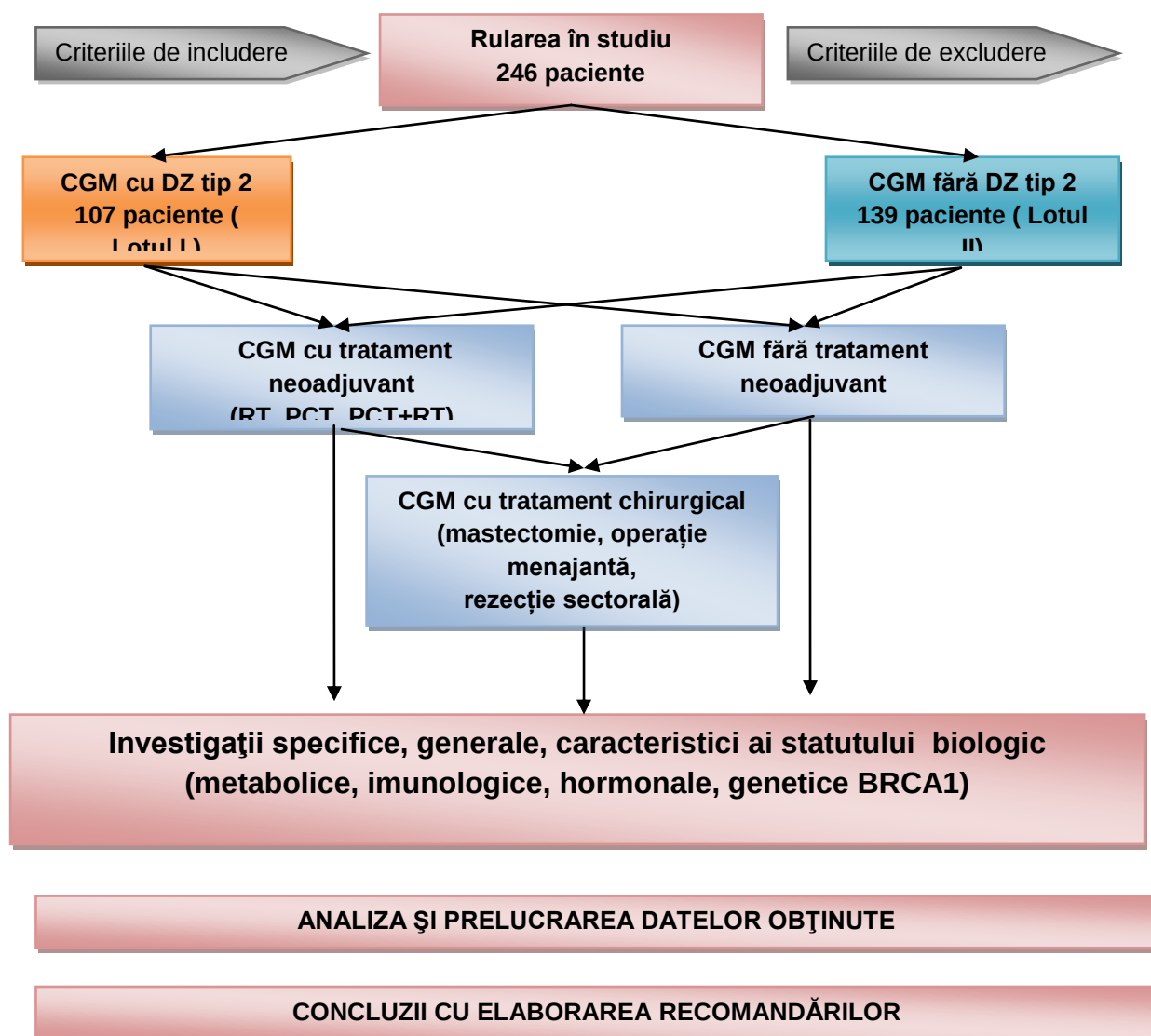


Fig. 2.1. Design-ul studiului

În chestionarul individual al pacientelor cu CGM și DZ tip 2 au fost codificate și prelucrate datele ce țin de informația pașaportală, manifestările clinice ale cancerului mamar și ale DZ tip 2, timpul depistării patologiilor, investigațiile imunologice, genetice, (prezența mutației în gena BRCA 1), instrumentale, examenul morfopatologic al tumorilor maligne etc.

Pacientele cu suspecție la hiperglicemie sau hiperglicemie vădită au fost consultate de către endocrinolog pentru confirmarea sau infirmarea diagnosticului de DZ și pentru stabilirea sau corecția schemei de tratament a DZ tip 2.

Diagnosticul de DZ tip 2 a fost stabilit în baza criteriilor de diagnostic incluse în Protocolul Clinic Național „Diabetul zaharat” (PCN – 33, elaborat în anul 2008, revăzut în 2012/2015)

Criteriile de diagnostic pentru diabetul zaharat tip 2 sunt:

- glicemie à jeun (pe nemâncate) ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l) și/sau
- glicemie ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) în timpul zilei.

Nivelul glicemiei se repetă în zile diferite pentru confirmarea rezultatelor.

2.2. Metodologia de cercetare și de acumulare a datelor

Investigațiile standard la pacientele lotului de studiu au fost efectuate în laboratoarele: biochimic, imuno-genetic, morfologia tumorilor, secțiunile tomografie computerizată și ecografie, radioimagistica ale IMSP Institutul Oncologic și în Centrul Național de Sănătate Publică, Laboratorul de Referință în Microbiologie.

1. Metodele de investigații pentru aprecierea și confirmarea diagnosticului de CGM și aprecierea extinderii procesului tumoral (clinică, instrumentală, citologică, morfologică, genetică etc.)

Metode de laborator:

- Hemoleucograma și aprecierea VSH-ului a fost efectuată cu ajutorul analizatorului hematologic PCE 210;
- Glicemia a fost determinată prin metoda enzimatică-calorimetrică cu ajutorul reactivului de diagnostic in vitro ELITech (Franța);
- Nivelele ALT, AST au fost determinate prin metoda IFCC modificată fără fosfat de piridoxal cu ajutorul reactivului de diagnostic in vitro ELITech;
- Ureea și creatinina serice au fost determinate prin metoda enzimatică-UV cu ajutorul reactivului de diagnostic ”in vitro” ELITech;
- Nivelul colesterolului a fost determinată prin metoda enzimatică-calorimetrică cu ajutorul reactivului de diagnostic ”in vitro” ELITech;

- Concentrația fibrinogenului a fost determinată prin cantitatea de fibrină formată la coagularea plasmei de către surplusul de calciu;
- Protrombina s-a apreciat după timpul de coagulare a plasmei sărace în trombocite în prezența unei cantități optime de calciu și a surplusului de tromboplastină tisulară;
- Analiza generală a urinei a fost efectuată după metoda standard;

Metode instrumentale

- Mamografia în 2 proiecții;
- Radiografia organelor cavității toracice;
- USG glandelor mamare, glandei tiroide, a organelor abdominale și a bazinului;
- Scintigrafia scheletului în regim ”corp-integru”;
- Tomografie computerizată sau tomografia prin Rezonanță Magnetică (la necesitate).

3. Investigații specifice pentru stabilirea diagnosticului și aprecierea gradului de compensare al diabetului zaharat tip 2.

Investigații de laborator specifice diabetului zaharat:

- Hemoleucograma;
- Analiza biochimică a sângelui;
- Glicemia;
- Colesterolul total, trigliceridele HDLC, LDLC;
- Proteina serică totală, reacțiile proteice;
- Enzimele hepatice;
- Bilirubina, ureea, creatinina;
- Ionograma (K, Na, Ca);
- Aprecierea glucozei și a corpurilor cetonice în urina nictemerală;
- Proteinuria nictemerală;
- Sumarul urinei;
- Microalbuminuria;
- Hemoglobina glicozilată.

Hemoglobina glicozilată a fost apreciată conform metodei cromatografice-spectrofotometrice cu schimb de ioni. După prepararea hemolizatului, din care au fost înlăturate fracțiile instabile, hemurile sunt reținute cu smoala de schimb cationic. Hemoglobina A1c se evaluează după spălarea fracției Hemoglobin A1a+b și se măsoară prin metoda fotometrică directă pe lungime de undă 405 nm. Rezultatele evaluării hemoglobinei glicozilate s-au apreciat conform

Protocolului Clinic Național „Diabet zaharat necomplicat”, elaborat în anul 2008, revăzut în 2012/2015:

- 6-6,5% reflectă o compensare optimală a DZ pe parcursul ultimelor 1-2 luni
- 6,6-7,0% – nivelul satisfăcător de compensare (subcompensare)
- peste 7,0% – gradul nesatisfăcător de compensare (decompensare)

Investigații instrumentale specifice diabetului zaharat:

- Electrocardiografia;
- Ecocardiografia;
- Examen radiologic al organelor cutiei toracice;
- Urografia cu contrast;
- Altele (în dependență de complicațiile diabetului zaharat)

Investigațiile specifice se efectuează pentru determinarea gradului de severitate al DZ tip 2 (ușor, mediu, grav), a nivelului compensării (compensat, subcompensat, decompensat) și a complicațiilor acestuia (microangiopatia diabetică: retinopatia, nefropati, neuropatia și macroangiopatia diabetică: cardiopatie ischemică, insuficiență cardiacă, afecțiuni cerebrovasculare, angiopatie periferică, hipertensiune arterială, dislipidemia și diverse afecțiuni asociate).

- **Examenul citologic și morfopatologic al materialului prelevat**

Investigațiile citologice pentru confirmarea diagnosticului de CGM au fost efectuate în laboratorul citologic al IMSP IO, pregătind frotiuri prin biopsia aspiratorie a tumorilor și ganglionilor limfatici cu fixarea și colorarea prin metode standard.

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

Investigația profilului imunohistochimic al tumorilor maligne.

Investigația profilului imunohistochimic a fost efectuată în laboratorul morfopatologic al IMSP IO. Reacțiile imunohistochimice s-au realizat pe 7 secțiuni de 4 microni obținute din blocurile incluse la parafină, care au fost întinse pe lame de sticlă pretratate cu polilizină sau încărcate electric, care au utilizat un panel bogat de anticorpi.

Procesarea tisulară: Specimenele, tumora primară și metastaza limfonodală au fost plasate într-o casetă și ulterior procesate în condiții identice: fixate în formalină tamponată de 10% timp de 24 - 48 ore și incluse în parafină conform unui protocol special. Pentru investigațiile histopatologice de rutină secțiunile de țesut de 4-6 μm grosime au fost aplicate pe lame cu polilizină, au fost colorate cu hematoxilină și eozină și apoi incluse în termostat la 37°C timp de 6

ore sau la temperatura camerei timp de 12 ore. S-a utilizat metoda de lucru indirectă în doi timpi, folosind tehnica *EnVision* de amplificare polimerică. Metoda se bazează pe utilizarea unui anticorp secundar marcat, acesta având specificitate împotriva anticorpului primar nemarcat, atașat antigenului tisular și care devine la rândul său un antigen. Procedura de lucru *LSAB HRP* presupune parcurgerea următorilor timpi: incubare cu Ac primar, incubare cu Ac secundar biotinitat, incubare cu streptavidina conjugată.

Criteriile de excludere utilizate în studiul imunohistochimic au fost reprezentate de existența zonelor de necroză și/sau ale ulcerățiilor extensive la nivel tumoral. Întru evitarea interpretărilor false privitor la procesarea tisulară, speciemenle (tumora primară și ganglionul limfatic) aceluiași caz au fost incluse într-un singur bloc de parafină, iar secțiunile ulterior colorate - pe aceeași lamă histologică. Metastazele limfoganglionare au fost confirmate imunohistochimic cu un cocktail de citokeratine *AE1/AE3*. Suplimentar, secțiunile au fost colorate cu 5 anticorpi monoclonali utilizând tehnici imunohistochimice de rutină. Toate etapele imunohistochimice au fost efectuate automat prin utilizarea autostainer-ului *Leica bond-Max* (*Leica biosystems, Newcastle UponTyne, UK*). Contracolorarea nucleilor s-a efectuat cu hematoxină modificată. Rezultatul reacțiilor imunohistochimice constă în vizualizarea antigenilor investigați cu ajutorul cromogenului DAB, care determină un precipitat brun nuclear. În studiul imunohistochimic efectuat am utilizat anticorpi concentrați, produși de firma DAKO Cytomation, Danemarca.

Tabelul 2.1 Anticorpii monoclonali utilizați pentru determinarea RE și RP

Antigen	Clona	Specificitate	Producător	Diluție
RE	1D5	Receptor nuclear pentru estrogen	Neomarkers	1:100
RP	1A6	Receptor nuclear pentru progesteron	Neomarkers	1:25
HER2/neu	Poli	Proteina membranară a genei HER2/neu	DAKO	1:250

Anticorpii primari utilizați pentru receptorii hormonal de estrogen (RE) și progesteron (RP) au fost: anticorpii monoclonali *anti-Human Estrogen Receptor clona 1D5*, anticorpii monoclonali *anti-PR clona PR 1A6*, produși de firma Dako Cytomation – Danemarca. În scop de control negativ am utilizat ractivele *DAKO Universal Negative Control*, iar anticorpii folosiți au fost furnizați în stare deja preparată. Pentru control negativ extern (RE, RP) s-au utilizat

secțiuni de la aceleași cazuri, tratate cu soluție de control în locul anticorpului, iar pentru controlul pozitiv extern (RE, RP) - țesutul glandular mamar normal. În cazul receptorilor hormonal, *pattern-ul* celular de colorare a fost cel nuclear. Am utilizat sistemul semicantitativ de evaluare *Allred* (tab. 2.2) ținând cont de numărul de nucleee pozitive și intensitatea colorației, cu notare de la 0 la 3 (negativ, slab, moderat și intens).

Tabelul 2.2 Evaluarea semicantitativă a expresiei nucleare a RE, RP în raport cu scorul Allred

Scorul numeric (PS)	Scor de intensitate (IS)
1 = <1% nucleii pozitivi	1 = slab pozitiv
2 = 1-10% nucleii pozitivi	2 = moderat pozitiv
3 = 11-33% nucleii pozitivi	3 = intens pozitiv
4 = 34-66% nucleii pozitivi	
5 = 67-100% nucleii pozitivi	

Pentru evaluarea rezultatelor imunohistochimice în urma marcajului pentru (RE) și (RP) a fost luat în considerație numai marcajului nuclear. Comparând cu datele literaturii, pentru studiul nostru s-a utilizat o valoare prag de 10% celule tumorale pozitive, fără a ține cont de intensitatea reacției

Pentru interpretarea rezultatelor imunomarcajului HER2/neu s-au folosit criteriile recomandate de ASCO și CAP în 2013 (tab.2.3) [8].

Tabelul 2.3 Criteriile de interpretare a imunomarcajului la HER2/neu (ASCO/CAP, 2013)

Criterii de interpretare	Scor	Categoria
Nu există marcaj membranar (0) sau marcaj membranar slab, incomplet (1+) în orice % de celulele tumorale	0-1	Negativ
Marcaj membranar complet, cu intensitate maximă (chicken-wire pattern) în ≤30% din celulele tumorale. Marcaj membranar complet, heterogen, slab sau moderat în cel puțin 10% din celulele tumorale	2+	Echivoc
Marcaj membranar complet, omogen, cu intensitate maximă (chicken-wire pattern) în >30% din celulele tumorale.	3+	Pozitiv

Pentru stabilirea scorului HER2/neu s-a cuantificat numai pe componenta invazivă, deoarece componenta *in situ* (eventual prezentă pe preparat) nu se evaluează.

Ulterior, s-a analizat expresia receptorilor hormonal – RE, RP și a HER2/neu prin încadrarea lor în grupuri cu imunofenotip specific, care au fost raportate la clasificarea moleculară în funcție de parametrii clinico-morfologici evaluați în studiu, cu accent pe cei cu valoare prognostică dovedită. Clasificarea moleculară a cazurilor selectate s-a realizat prin tehnica imunohistochimică pe baza datelor din literatura de specialitate [50, 74]. Ca urmare, în funcție de statusul RE, RP și HER2/neu am încadrat cazurile în 4 clase moleculare conform clasificării St Gallen international expert consensus 2015 (tabelul 2.4).

Tabel 2.4 Clasele moleculare ale cancerului mamar definite imunohistochimic
(Clasificarea *St Gallen international expert consensus* 2015)

Subtip	RE	RP	HER-2/neu	Ki- 67
Luminal A	+	+	–	<15
Luminal B	+	+/_	+	>15
HER pozitiv	+/_	–	+	-
Bazal-like	–	–	–	-

- **Investigații imunologice** s-au efectuat în laboratorul imuno-genetic al IMSP Institutul Onologic. S-au studiat unii indici ai imunității: T limfocite CD3; T limfocite helperi CD4; T limfocite citotoxice CD8; T limfocite mature CD5; Kileri naturali CD16/CD25, de asemenea raportul indiciilor CD4/CD8 și CD4+CD8/CD3, care s-au efectuat prin teste de imunofenotipare cu aprecierea antigenelor CD (subpopulații ale limfocitelor).

Limfocitele au fost identificate din sângele periferic cu *Ethylenediaminetetraacetic acid*, antiagregant prin centrifugare cu gradientul *Ficoll-Paque* (densitate 1,077 gr/ml). Volumul de 1-0,1 mln de limfocite - 50 mcl s-au introdus în eprubete pentru centrifugare pe o tabletă rotundă cu 96 godeuri. La aceste celule s-au adăugat 5 mcl anticorpi monoclonali testați, care au fost incubate 45 min la temperatura +4°C. La sedimentul celulelor spălate se adăugau 50 mcl F (ab) 2-fragmente de anticorpi de ovine la Ig de șoareci, marcate *FITC* și dizolvate 1:100. Pentru dizolvare s-a utilizat *PBS*, ce conținea 0,5% gelatină și 0,1% azidă de sodiu. Celulele au fost suspendate și incubate 30 min la temperatura +4°C, după ce de două ori au fost spălate. După centrifugarea definitivă și eliminarea de supernatant la sedimentul celulelor s-a adăugat 50 mcl 1% de paraformaldehidă la soluție tampon-fosfat-salin (pH 7,4). Ponderea (%) celulelor fluorescente se determină la examinarea a 200 limfocite.

- **Investigațiile 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 *ООО «ГеноТехнология»* Moscova, prima întreprindere din Rusia, care a elaborat și introdus tehnologii molecular –genetice în medicina practică.

Determinarea frecvenței mutației majore a genei BRCA1 5382insC s-a efectuat la 108 pacienți din lotul de studiu prin cuantificarea expresiei genice prin cea mai performantă tehnică *Real-Time qPCR*, pentru 8 gene candidat și două gene de referință. Amplificările *Real-Time* pentru cuantificarea moleculelor în *qPCR* au fost realizate folosind aparatul 7500 *Real-Time PCR System*, *Applied Biosystems*. Detecția fluorescentă a creșterii numărului de molecule a fost realizată în sistem *Taqman*. Rezultatele de cuantificare au fost interpretate atât prin sistemul comparației curbelor standard, cât și prin metoda *DDCt*.

Setul a fost utilizat pentru determinarea variantei polimorfe respective a genei BRCA1, care e caracteristică pentru formele genetice ale cancerului mamar și ovarian. Frecvența mutației BRCA1 5382insC este majoră printre alte defecte ale genei BRCA1 și constituie de la 8-15 % în populația diferitor țări. În calitate de material clinic testat am utilizat ADN-ul genomic, detectat din leucocitele sângelui periferic. Setul de testare este bazat pe metoda *PCR* în timp real cu utilizarea sondelor fluorescente hidrolizate în procesul amplificării genice.

Diferența între compatibilitatea sondelor respective cu varianta alelă mutantă sau normală a genei BRCA1 stă la baza capacității de detectare a mutației majore în setul – test utilizat.

Sistemul de testare se bazează pe o metodă de timp real tehnologie *PCR TaqMan* folosind ADN-ul genomic. Sistemele de testare *JAK2V617F-test*, *MPLW515L / K-test* pot fi folosite atât ca o evaluare calitativă a prezenței mutațiilor, cât și pentru determinarea cantitativă a raportului de *alele* normale și mutante. Cuantificarea este important să se evalueze răspunsul pacienților la terapie, monitorizarea evoluției bolii. Restul sistemului de testare pentru discriminare alelică permite analiza calitativă a prezenței variante alelice relevante clinic. ADN-ul a fost extras din sângele periferic. O metodă particulară de *PCR-multiplex alelă*- special a fost folosită pentru a depista mutația recurentă 5382insC. Amplificarea și secvențierea *Sanger* au fost utilizate pentru a confirma prezența mutațiilor.

Principiul metodei constă în determinarea cantitativă a expresiei formelor mutante 5382insC în gena BRCA1 prin două operațiuni succesive extragerea ADN-ului total din materialul clinic, efectuarea reacției de amplificare în timp real cu detectarea ulterioară a produselor reacției. În baza curbelor de calibrare (care se calculează conform standardelor cu concentrația cunoscută) se determină numărul copiilor mutante 5382insC în gena BRCA1 (mutantă și normală), ce permite determinarea concentrației relative a formelor mutante.

Sistemul de testare în regim „*timp real*” depistează semnalele fluorescente ce indică prezența variantei mutante 5382insC a genei BRCA1 sau a variantelor de alele normale.

Volumul amestecului reactiv constituie 25 mcl. Fiecare mostră se analizează prin 2 tipuri de reacții-cu sondele *mut* sau *wt*. În așa fel, fiecare mostră a materialului clinic studiat participă în 4 reacții paralele: 2 reacții varianta *mut* și altele 2 –variantă *wt*, adică norma. Toate reacțiile se dublează pentru veridicitate maximală.

Sistemele de testare sunt concepute pentru analiza în 2 sau 3 repetări ale 100 probe clinice, un eșantion martor din ADN cu diferite variante alelice și probe de control negativ.

2.3. Metode de procesare statistică și analiza rezultatelor obținute: Pentru prelucrarea statistică a datelor obținute în studiul efectuat am folosit metoda interveivării standard, metodele de analiză matematică și statistică, utilizând indicatorii relativi, media aritmetică și marja de eroare a acesteia.

Rezultatele evaluărilor cantitative ale valorilor parametrilor investigați au fost supuse analizei statistice după metoda cercetării selective, evaluând mediile aritmetice și erorile acestora. Ținând cont de prezența grupelor cu mai multe tipuri ale variatelor (nominale și scalare), pentru prelucrarea statistică au fost utilizate două variante de prelucrare corelativă:

1. în cazul când ambele variate au corespuns tipului nominal s-a calculat tabelul frecvenței distribuțiilor comune, care a fost verificat cu ajutorul criteriului χ^2 ;
2. în cazul când una din variate a corespuns tipului nominal, iar alta tipului scalar, atunci conform datelor variatei de tip nominal grupul a fost separat în subgrupuri cu cercetare inițială a valorilor tip scalar după metoda Student și analizei dispersiei.

Datele obținute în rezultatul investigațiilor de program au fost prelucrate computerizat prin metode de analiză variațională, corelațională și discriminantă. Gradul de concludență al relațiilor corelative dintre parametrii evaluați s-a estimat după coeficientul de corelație r [89].

Coeficientul corelării valorilor se determină prin formula (formula 2.2):

$$r(z,h)=\mu(z,h)\div(\sigma(z) \times \sigma(h)) \quad (2.2)$$

Coeficientul corelării demonstrează puterea și direcția dependenței liniare a două valori, el se află în limitele -1 și +1 și corespunde valorilor -1 sau +1 doar în acel caz, când valorile z și h au dependență liniară, adică pentru unele constante a și b se efectuează ecuația $z=(a+b) \times h$.

În cazul când constanta b este pozitivă coeficientul este egal +1 și -1 – când este negativă. În așa fel, valorile r de 0,3-0,4 se consideră o corelație slabă, valorile situate în intervalul 0,3-0,7 atestă o corelație medie, cele de peste 0,7 – o relație corelativă remarcabilă. Corelațiile statistice dintre parametrii calitativi s-au redat prin tabele de contingență, iar pentru verificarea ipotezei de independență a liniilor și a coloanelor s-a folosit criteriul KSI^2 (χ^2). Concludența diferențelor dintre valorile medii ale parametrilor studiați în diferite loturi s-a determinat folosind criteriul *t-Student*.

Pentru valorile nonparametrice au fost calculați coeficienții de corelare nonparametrică *Spearman*, *Kendall tau*, *gamma (Rr)*. Analiza *Box-Plot* permite reprezentarea grafică a repartiției valorilor maxime – minime, mediei aritmetice și a deviației standard pentru fiecare variabilă.

Analiza regresională se bazează pe analiza corelațională, dar spre deosebire de aceasta, indică nu doar gradul de dependență și orientarea între factori, ci și ecuația matematică a acestor relații, ceea ce are o importanță predictivă pentru medicul clinician. Analiza clusteriană, una dintre analizele de bază pentru clasificarea obiectelor, pune în evidență gradul de similitudine/deosebire între variabile (persoane, parametri ș.a.). Analiza prezintă o procedură statistică multidimensională care implică colectarea datelor și repartiția acestora în grupuri relativ uniforme în baza distanțelor euclidiene, prin metoda *Ward*. Analiza clusteriană s-a efectuat în baza construirii dendrogramelor, care determină gradul de apropiere al valorilor după principiul dependenței și influenței unuia asupra altuia.

Analiza scanării multiple s-a efectuat în baza matricei distanțelor euclidiene și prezintă repartiția obiectelor în spațiul n-metric tridimensional.

Analiza factorială corelațională ANOVA stabilește gradul de interacțiune între factori și ponderea procentuală a diferiților factori (independenți) în sursa de variație a altui factor (dependent). Acest test are avantajul că poate compara în același timp valorile mai multor loturi, în vreme ce testul *t-Student* nu poate face acest lucru. Măsurătorile se fac pe mai multe loturi pe care programăm să le comparăm din punct de vedere al valorilor și interdependenței lor. Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft *STATISTICA 7.0*

2.4 Concluzii la capitolul II

1. Studiul este bazat pe analiza rezultatelor obținute în urma utilizării unui algoritm complex de investigare și cercetare științifică a unui număr de 246 de pacienți, care au format lotul de bază și lotul de control. Loturile studiate au fost omogenizate și comparabile. Studiul efectuat a purtat un caracter clinico-analitic.

2. În cercetare au fost utilizate metode științifice logice, așa ca analiza și sinteza, deducția și inducția, care au fost utilizate pentru revizuirea literaturii de specialitate și pentru formularea concluziilor. Observația directă și indirectă (examenul clinic al pacienților suplimentat de analiza fișelor de observație) și comparația au stat la baza studiului clinic efectuat. Pentru selectarea pacienților încuși în studiu s-au utilizat criteriile de includere și excludere. Analiza datelor științifice obținute s-a efectuat în baza criteriului "caz-control".

3. Din punct de vedere etic studiul nu a inclus elemente de experimentare umană. Având în vedere prezența în studiu a indicilor cu mai multe variate (nominale și scalare), datele statistice s-au prelucrat separat.

3. PARTICULARITĂȚILE IMUNO-GENETICE LA PACIENTELE CU CANCER

MAMAR ASOCIAT CU DIABET ZAHARAT TIP 2.

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

Actualmente este recunoscut faptul, că mutațiile în genele BRCA1 și BRCA2 care afectează linia germinală sunt responsabile pentru apariția cancerelor ereditare: mamar și ovarian. Frecvența factorului ereditar cu mutații genetice în neoplasmelor mamare este de 8-12%

Gena BRCA1 a fost identificată prin clonare pozițională pe brațul lung al cromozomului 17 (17q12-21). Aceasta codifică o proteină care constă din 1863 aminoacizi BRCA1 / 2 – gene – supresoare de proliferarea celulelor, inactivarea de ambele alele care conduc la diviziunea necontrolată și în cele din urmă la apariția unei tumori maligne.

A fost demonstrat că cancerul mamar BRCA1 asociat, în contrast cu cel sporadic, este caracterizat de un grad înalt de malignitate, o incidență crescută a tumorilor estrogen și progesteron-negative, frecvența mai mare a formelor morfologice rare, pathomorphism terapeutic pronunțat până la regresie totală. S-a constatat că supraviețuirea pacientelor cu cancer ereditare ale sistemului reproductiv feminin este mult mai mare decât în grupul total de pacienți, indiferent de stadiul și de tratament: 5 ani de supraviețuire a pacienților cu CGM ereditar este de 75% (populația generală - 43%)

Reamintim, că determinarea genei BRCA1 s-a efectuat la 108 paciente, dintre care la 64 paciente cu CGM și DZ tip2 și 44 - cu CGM fără DZ. Loturile au fost divizate în grupuri în funcție de prezența mutației BRCA1 5382insC: lotul I –în grupul A - pacientele cu prezența mutației majore BRCA1 5382insC, grupul B - pacientele fără mutația respectivă, lotul II - în grupul C –pacientele cu prezența mutației majore BRCA1 5382insC, grupul D - pacientele fără această mutație.

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 diabet zaharat ($p < 0,01$) (tabelul 3.1).

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.

Tabelul 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 asociat cu DZ (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%)			

La pacientele cu CGM și DZ tip 2 se denotă un grad înalt de corelare al cancerului mamar cu prezența mutației genetice BRCA1 5382insC ($r=0,93$), în comparație cu pacientele cu CGM fără DZ tip 2 – care posedă un grad scăzut de corelare ($r=0,34$), ($p<0,005$).

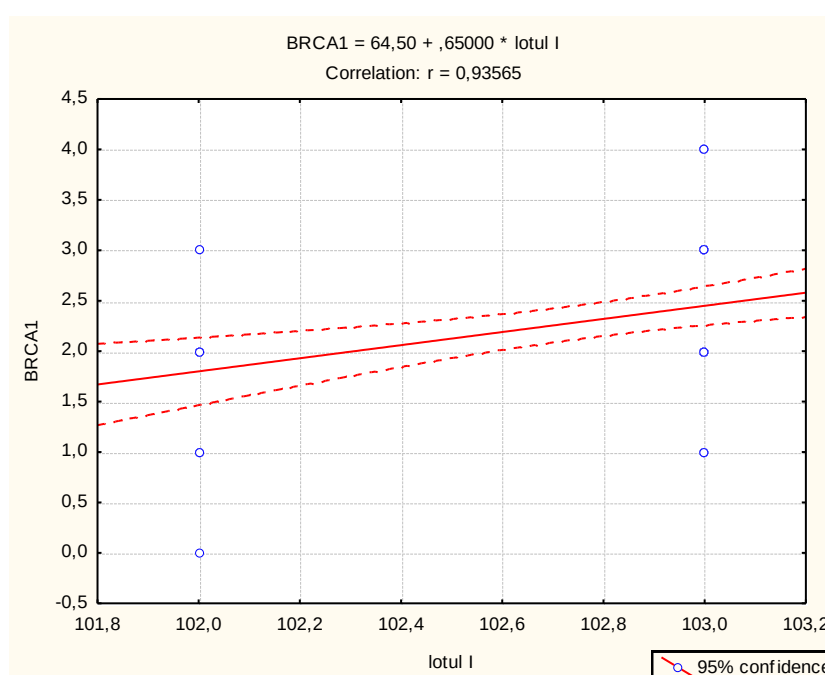


Figura 3.1 Corelarea grafică a prezenței mutației 5382insC în gena BRCA 1 la pacientele lotului I

Reprezentarea grafică a corelării prezenței mutației 5382insC în gena BRCA 1 la pacientele lotului de studiu este redată în figurile 3.1 și 3.2.

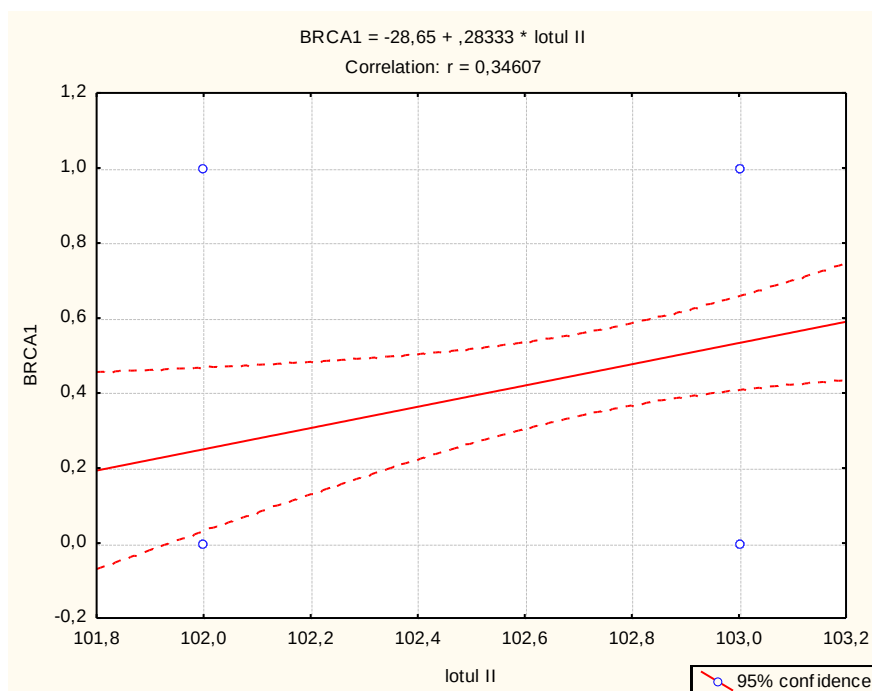


Figura 3.2 Corelarea grafică a prezenței mutației 5382insC în gena BRCA 1 la pacientele lotului II

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

Această analiză cumulativă a datelor obținute au stabilit că asocierea dintre tarele genetice exprimate prin activarea genei BRCA1 și diabetul zaharat sunt puternic asociate între ele la pacientele cu cancer mamar. Astfel, în viitor, aprecierea genei BRCA1 ar putea ajuta conduita pacientelor cu diabet zaharat în vederea cancerului mamar.

3.2. Particularitățile statusului imun celular nespecific și corelarea factorială cu mutația 5382insC în gena BRCA1 la pacientele cu cancer mamar asociat cu 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. Este cunoscut faptul, că atât în CGM, cât și în DZ tip 2 sistemul imun se caracterizează printr-o depresie marcantă, care apare pe fundalul scăderii numărului celulelor totale. Totodată, numărul celulelor imune active crește pe fundalul clonelor puțin active în defavoarea celor normale.

Unul din cei mai accesibili și veridici indicatori ce caracterizează sistemul imun, este determinarea limfocitelor în sângele periferic. Pentru caracteristica indicilor cantitativi și funcționali ai subclaselor

limfocitelor T și B am utilizat o metodă efectivă de identificare a celulelor prin determinarea imuno-fermentativă cu ajutorul anticorpilor monoclonali. Am efectuat un șir de cercetări a determinantelor celulare (CD), scopul principal fiind compararea acestor rezultate între loturile de pacienți și analiza corelării cu mutația genică înaltpenetrantă BRCA1.

Paciențele din ambele loturi de studiu au prezentat o repartizare uniformă a indicilor relativi ai concentrației *T limfocitelor CD3* (tabelul 3.2). Valori scăzute (<40 %) s-au înregistrat la 32,71% pacienți din lotul I și la 33,82% - din lotul II, valori medii (40 - 60 %) - la 25,23% din lotul I și la 30,14% - din lotul II, valori înalte (>60 %) la 42,05% și, respectiv, la 36,02% pacienți.

Tabelul 3.2 Concentrația T limfocitelor CD3 în sângele periferic la paciențele lotului de studiu (indicii relativi, %)

Loturile de studiu		Concentrația T limfocitelor CD3 %			
		<40 (valori scăzute)	40-60 (valori medii)	>60 (valori înalte)	p
CGM asociat cu DZ tip 2		35 (32,71%)	27 (25,23%)	45 (42,05%)	-
A	BRCA1 5382insC +	6 (42,85%)*	5 (35,71%)	3 (21,42%)*	*<0,05
B	BRCA1 5382insC -	23 (46%)*	18 (36%)*	9 (18%)*	
CGM fără DZ tip 2		46 (33,82%)	41 (30,14%)	49 (36,02%)	-
C	BRCA1 5382insC +	2 (40,0%)	2 (40,0%)	1 (20,0%)	**>0,05
D	BRCA1 5382insC -	19 (48,71%)**	15 (38,46%)**	5 (12,82%)**	
Total		79 (32,11%)	65 (26,42%)	102 (41,46%)	-
Valoarea indicelui p _{I-II}		<0,05	<0,05	<0,01	<0,05
Corelarea cu BRCA1 (r)		r=0,53 >0,05	r=0,43 >0,05	r=0,32 >0,05	-

Notă: aici și în continuare *-pentru p_{A-B}, ** - pentru p_{C-D}.

Analiza concentrației limfocitelor CD3 în funcție de prezența mutației în gena BRCA1 5382insC a relevat o tendință similară de scădere uniformă a indicilor la pacientele lotului I (cu CGM și DZ tip 2) cu prezența mutației genetice. Valori scăzute ale T limfocitelor CD3 am constatat la 42,85% paciențe din grupul A vs 46,0% grupul B, valori medii – la 35,71% vs 36% cazuri, valori înalte - la 21,42% și 18%, respectiv. Aceeași tendință au prezentat pacientele din lotul II de studiu (cu CGM fără DZ tip 2) cu valori scăzute ale limfocitelor CD3 - în 40,0% cazuri în grupul C vs 48,71% - în grupul D, valori medii - 40,0% vs 38,46% și valori înalte doar în 20,0% vs 12,82% cazuri.

Așadar, s-a constatat că nivelurile T limfocitelor CD3 sunt scăzute cu semnificație statistică între loturi, ce caracterizează o imunodepresie vădită în ambele loturi de paciențe, preponderent în lotul cu prezența diabetului ($p < 0,05$) (figura 3.3).

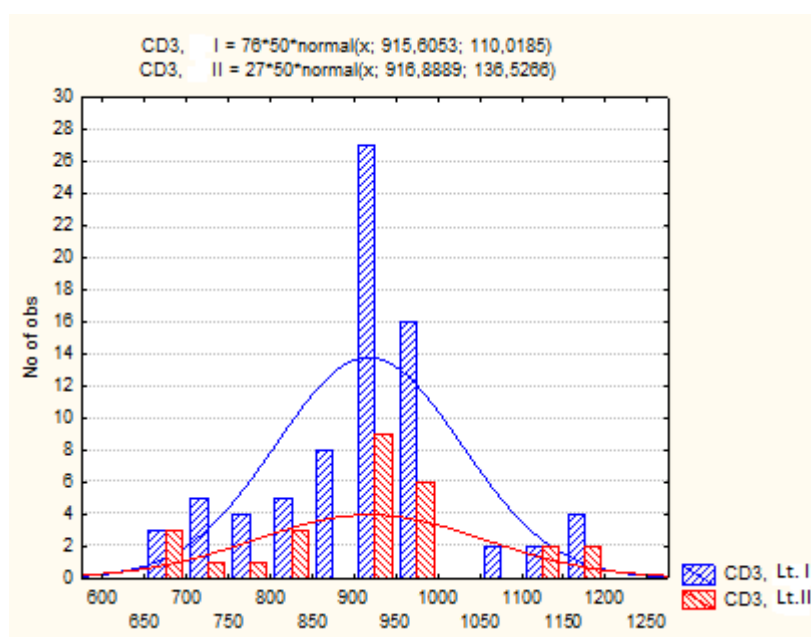


Figura 3.3. Repartiția valorilor T limfocitelor CD3 la pacientele incluse în studiu

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 paciențe: pentru valorile scăzute corelarea a constituit $r=0,53$ ($p > 0,05$), pentru valori medii - $r=0,43$ ($p > 0,05$), pentru valori înalte - $r=0,32$ ($p > 0,05$).

Așadar, efectuând analiza corelațională a valorilor T limfocitelor CD3 cu prezența mutației înaltpenetrante în gena BRCA1, am constatat un grad de corelare mediu și scăzut pentru toate pacientele incluse în studiu.

O altă subpopulație a limfocitelor T, ce determină reglarea răspunsului imun și realizează funcțiile efectoare sunt *limfocitele T-helperi CD4*. Determinarea conținutului procentual al T limfocitelor CD4 la paciențele lotului de studiu a demonstrat valori scăzute (< 20%) - în 32,92%, valori medii (20-35%) - în 29,26% și valori înalte (> 35%) - în 37,8% cazuri.

Tabelul 3.3 Concentrația T limfocitelor CD4 la paciențele incluse în studiu (indicii relativi,%)

Loturile de studiu		Concentrația T limfocitelor CD4			
		< 20 (valori scăzute)	20 – 35 (valori medii)	> 35 (valori înalte)	P
CGM asociat cu DZ tip 2		62 (57,94 %)	28 (26,16%)	17 (15,88%)	-
A	BRCA1 5382insC+	11 (78,57%)*	3 (21,42%)*	0	*<0,01
B	BRCA1 5382insC -	29 (58%)*	19 (38,0%)*	2 (4,0%)	
CGM fără DZ tip 2		19 (13,66%)	44 (31,65%)	76 (54,67%)	-
C	BRCA1 5382insC+	4 (80%)**	1 (20%)**	0	**<0,05
D	BRCA1 5382insC -	19 (48,71%)**	18 (46,15%)**	2 (5,12%)	
Total		81 (32,92%)	72 (29,26%)	93 (37,8%)	-
Valoarea indicelui p _{I-II}		<0,001	>0,05	<0,01	<0,01
Corelarea cu BRCA1 (r)		r=0,92 <0,001	r=0,70 >0,05	r=-0,68 <0,05	-

Analizând concentrația T limfocitelor CD4 la paciențele cu CGM asociat cu DZ tip 2, am constatat valori scăzute în 57,94 % vs 13,66%, ce e de 4 ori mai mult în comparație cu lotul paciențelor cu CGM fără DZ ($p<0,001$), valorii medii - în 26,16% cazuri în lotul I vs 31,65% - în lotul II, valori înalte ale concentrației T limfocitelor CD4 au fost stabilite de 4 ori mai frecvent (54,67% vs 15,88%) la paciențele lotului II, în comparație cu paciențele din lotul I, diferența fiind statistic semnificativă ($p<0,01$) (tabelul 3.3).

În așa fel, putem constată, că în cazul asocierii CGM cu DZ tip 2 se detectează o imunodepresie a T limfocitelor CD4 mult mai severă, decât în lipsa diabetului. Imunodepresia vădită depistată în CGM asociat cu DZ tip 2 poate fi explicată prin implicarea a doi factori principali. Primul factor este consumul excesiv al celulelor efectoare prin accelerarea apoptozei din cauza dereglărilor metabolice, al doilea este excesul de celule autoimune, fenomen frecvent depistat în neoplazii. Celule autoimune au o activitate crescută și, ca rezultat a migrării lor rapide din sângele periferic în țesuturi, scade atât numărul total de limfocite, cât și subgrupurile limfocitare corespunzătoare.

Necesită de menționat, că în CGM antigenii proteici tumorali nimerind în serul sangvin mobilizează trei tipuri de celule prezentatoare de antigen. Aceste celule leagă antigenul de suprafața lor, îl prelucrează și apoi părăsesc serul sangvin, fiind încărcate cu antigenii care migrează spre vasele limfatice aferente către regiunea paracorticală a ganglionilor limfatici, unde formează celulele capabile să prezinte în final antigenii T limfocitelor CD4. Acest fapt, posibil, determină scăderea consumului excesiv de limfocite CD4. Repartiția valorilor T limfocitelor CD 4 este reprezentată grafic în figura 3.4

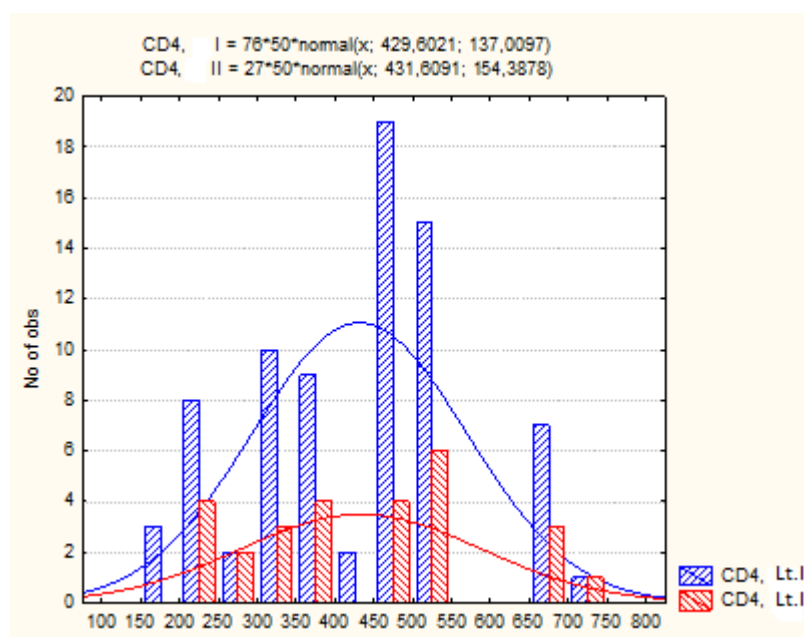


Figura 3.4. Repartiția valorilor T limfocitelor CD4 în lotul pacienților cu CGM

Analizând concentrația T limfocitelor CD4 în funcție de prezența mutației în gena BRCA1 5382insC, am constatat valori scăzute în 78,57% grupul A și 58% - în grupul B din lotul pacienților cu CGM și DZ tip 2 ($p_{A-B} < 0,01$) și practic de 2 ori mai puțin (80,0% vs 48,71 %) - în grupurile C și D din lotul II ($p_{C-D} < 0,05$). Valorile medii ale T limfocitelor CD4 au prezentat în grupul A 21,42% cazuri vs 38,0% - în grupul B ($p_{A-B} < 0,01$). Pacientele din grupul C au prezentat valori medii de 2 ori mai rar - 20,0% vs 46,15%, față de grupul D ($p_{C-D} < 0,05$).

Pacientele din ambele loturi cu prezența mutației BRCA1 5382insC nu au prezentat valori înalte ale limfocitelor T(CD4), și doar în grupurile pacientelor fără mutație înaltpenetrantă - grupul B și D - 4,0 % și, respectiv, 5,12% cazuri.

Cercetarea corelațională a prezenței mutației 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 CD4 s-au înregistrat diferențe veridice între grupurile de paciente. În cazul pacientelor din lotul I s-a determinat un grad înalt de corelare ($r=0,92$) între prezența mutației 5382insC în gena BRCA1 și valorile scăzute ale limfocitelor CD4 ($p<0,01$) și grad invers proporțional de corelare ($r= - 0,68$) - în cazul valorilor înalte ale limfocitelor CD4 ($p<0,05$). Pentru valorile medii ale T limfocitelor CD4 nu s-au înregistrat corelări statistic semnificative ($r=0,07$) ($p>0,05$). Presupunem, că mutațiile în gena BRCA1, depistate de 2 ori mai frecvent la pacientele cu DZ, au proprietatea de a activa celulele CD4 și de a induce răspunsul imun incomplet, grăbind apoptoza celulară. Examinarea corelării prezenței mutației genei BRCA1 5382insC cu valorile relative ale T limfocitelor CD4 a determinat, că cele mai semnificative valori s-au prezentat în cazul asocierii CGM și DZ tip2 (figura 3.5).

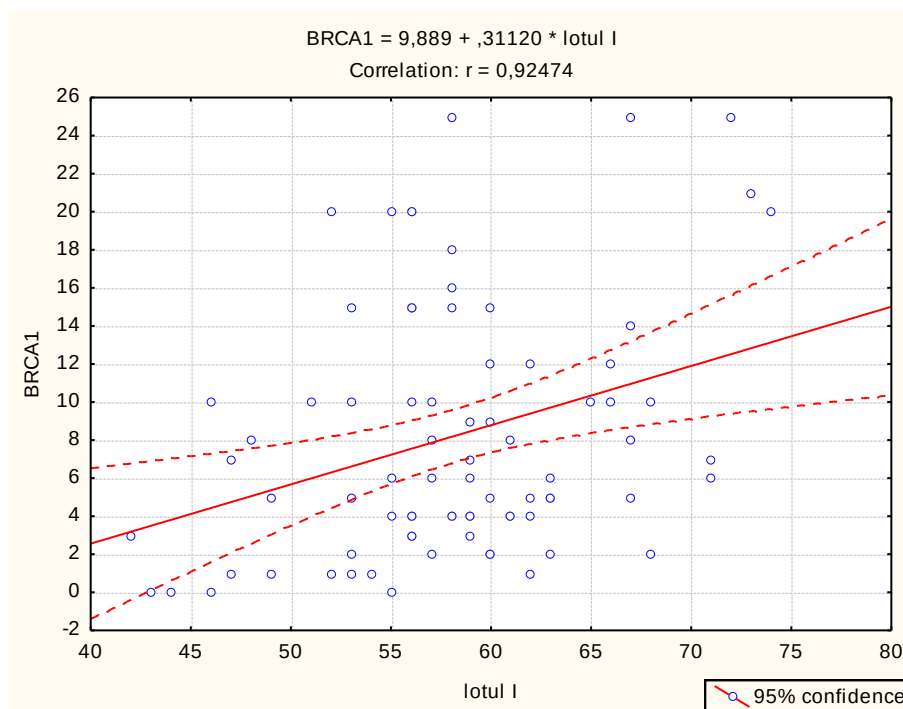


Figura 3.5. Reprezentarea grafică a corelării factoriale a genei BRCA1 cu valorile relative ale T limfocitelor CD4 la pacientele cu CGM cu DZ tip 2

În cazul pacientelor nondiabetice se denotă o asociere corelativă mai mică 2 (figura 3.6).

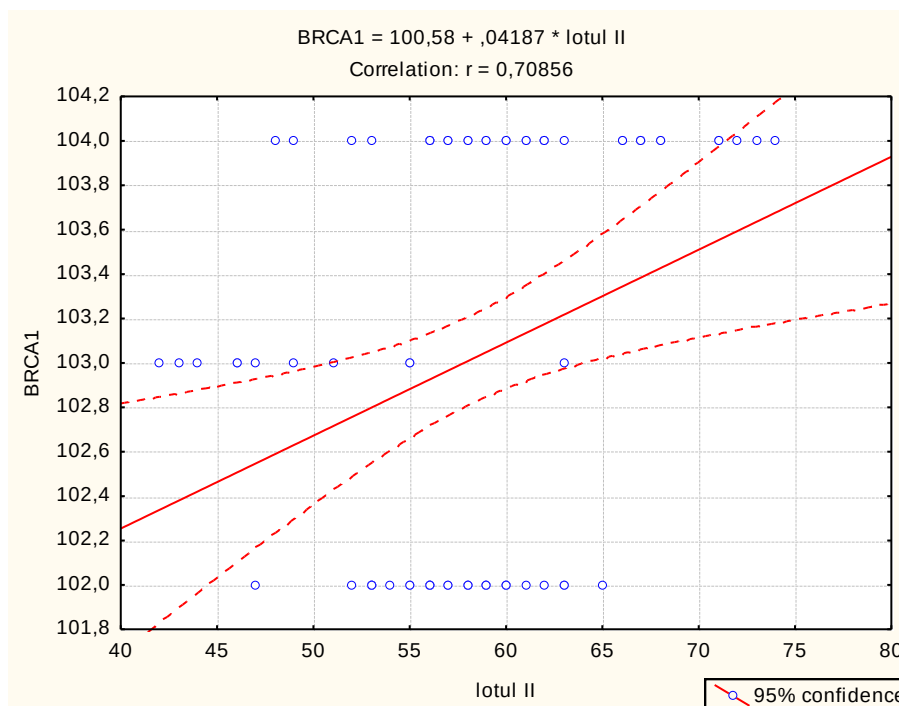


Figura 3.6. Reprezentarea grafică a corelării factoriale a genei BRCA1 cu valorile relative ale T limfocitelor CD4 la paciențele cu CGM fără DZ tip 2

Efectuând analiza concentrației T limfocitelor CD8 supresoare în loturile de studiu s-a constatat, că paciențele cu CGM și DZ tip2 de 8 ori mai frecvent prezintă valori scăzute, față de paciențele cu CGM fără DZ tip2 (54,20% vs 7,19%), ($p < 0,001$), valori medii (14–18%) s-au constatat în 24,29% vs 23,02% cazuri, valori înalte ($> 18\%$) au prezentat 69,78% paciențe din lotul II și de 3 ori mai rar, doar 21,49% - în lotul I ($p < 0,01$) (tabelul 3.4).

Acest fapt ar putea fi cauzat de inhibiția masivă a diferențierii T limfocitelor CD8 în cazul prezenței diabetului zaharat tip2. Distribuția grafică a valorilor T limfocitelor CD8 este prezentată în figura 3.7

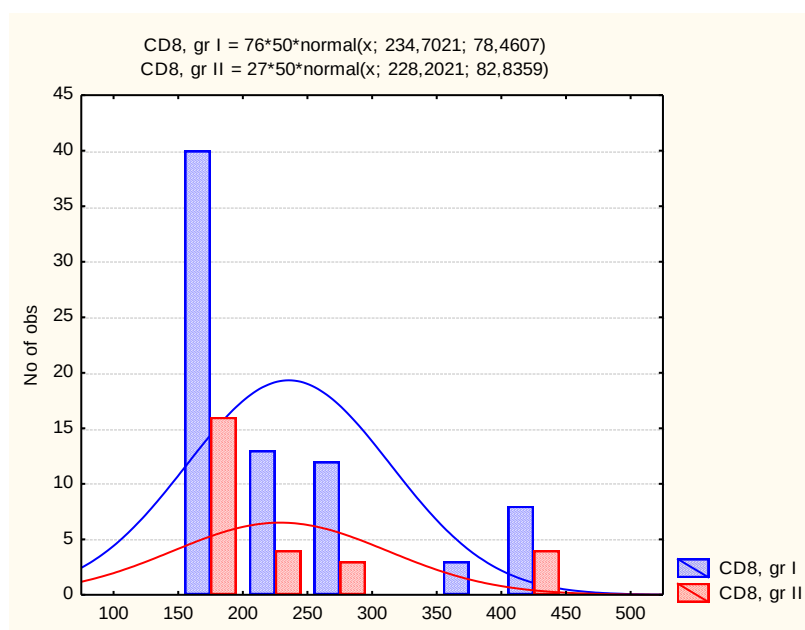


Figura 3.7 Repartiția valorilor T limfocitelor CD8 în loturile de studiu

Analizând valorile T limfocitelor CD8 în funcție de prezența mutației BRCA1 5382insC în lotul cu CGM asociat cu DZ tip 2 am constatat, că valori scăzute au prezentat 64,28% pacienți cu prezența mutației BRCA1 5382insC, comparativ cu 52,0% cazuri - în grupul fără mutație genetică ($p_{A-B} < 0,01$). Valori medii s-au constatat în 35,71% vs 30% și valori înalte ale T limfocitelor CD8 au prezentat numai paciențele din grupul B – 18,0% cazuri, față de paciențele din grupul A, unde nu s-au depistat valori înalte a acestui indice ($p_{A-B} < 0,01$).

Tabelul 3.4 Concentrația T limfocitelor CD8 în sângele periferic la paciențele incluse în studiu (indicii relativi, %)

Loturile de studiu		Concentrația limfocitelor T (CD8)			
		< 14 (valori scăzute)	14 – 18 (valori medii)	> 18 (valori înalte)	P
CGM asociat cu DZ tip 2		58 (54,20 %)	26 (24,29%)	23 (21,49%)	-
A	BRCA1 5382insC+	9 (64,28%)*	5 (35,71%)*	0	* $<0,01$
B	BRCA1 5382insC -	26 (52%)*	15 (30%)*	9 (18, 0%)	
CGM fără DZ tip 2		10 (7,19%)	32 (23,02%)	97 (69,78%)	
C	BRCA1 5382insC+	3 (60,0%)**	2 (40,0%)**	0	** $<0,05$
D	BRCA1 5382insC -	21 (53,84%)**	16 (41,02%)**	2 (5,12%)	
Total		143 (58,13%)	59 (23,98%)	44 (17,88%)	-
P I-II		$<0,001$	$>0,05$	$<0,01$	$<0,01$
Corelarea cu BRCA1 (r)		r=0,95 $<0,001$	r=0,62 $<0,05$	r=0,42 $>0,05$	-

În lotul pacienților cu CGM fără DZ tip 2 cu prezența mutației în gena BRCA1 5382insC (grupul C) am constatat valori relative scăzute ale T limfocitelor CD8 în 60,0% cazuri, iar în grupul fără mutație majoră în gena BRCA1 (grupul D) – în 53,84,% ($p_{C-D} < 0,05$). Valori medii au prezentat practic egal paciențele din grupul D, față de grupul C - 40,0% și, respectiv, 41,02 %, iar valori înalte ale T limfocitelor CD8 au prezentat numai 5,12% din grupul D ($p_{C-D} < 0,05$).

În cazul T limfocitelor CD8 s-a înregistrat corelarea factorială cu mutația în gena BRCA1 cu o tendință de micșorare a concentrației acestora și inducerea unei imunodeficiențe secundare, cum se întâmplă în cazul pacienților cu CGM - indicele corelării a constituit 0,62 ($p < 0,05$) dar, mai semnificativ, în DZ tip 2 cu indicele de corelație 0,95 ($p < 0,001$) (figura 3.8 și 3.9).

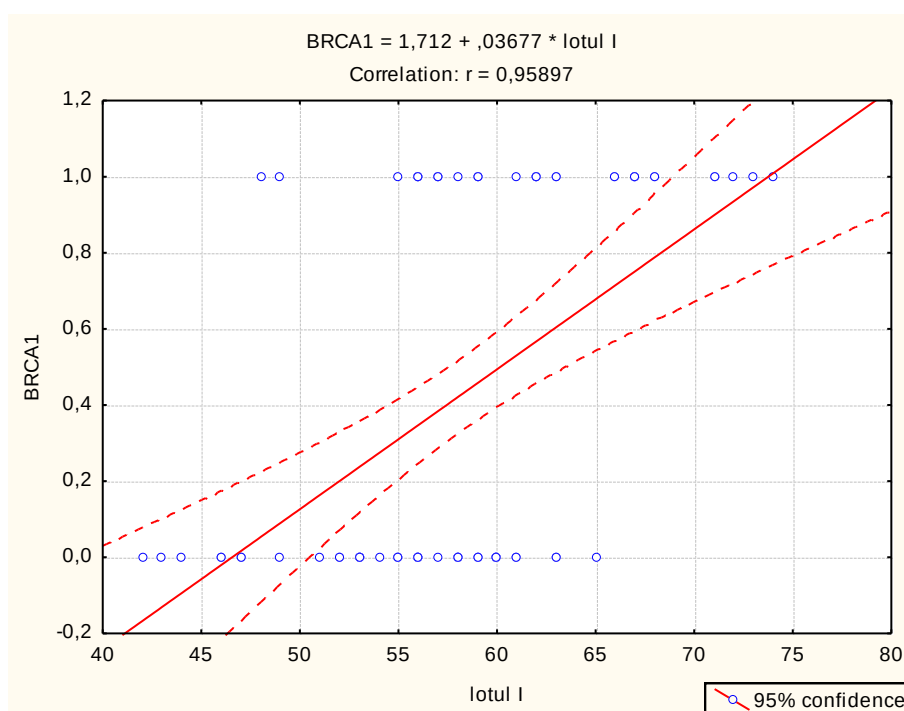


Figura 3.8 Corelarea prezenței mutației în gena BRCA1 5382insC cu valorile T limfocitelor CD8 la paciențele din lotul I

Așadar, putem constată că paciențele din ambele loturi au prezentat valori relativ scăzute ale T limfocitelor CD8 în grupurile A și C – grupuri cu prezența mutației în gena BRCA1 5382insC (64,28% și 60%), ceea ce denotă o tendință comună de influență negativă a prezenței mutației genice asupra statusului imunosupresiv al pacienților.

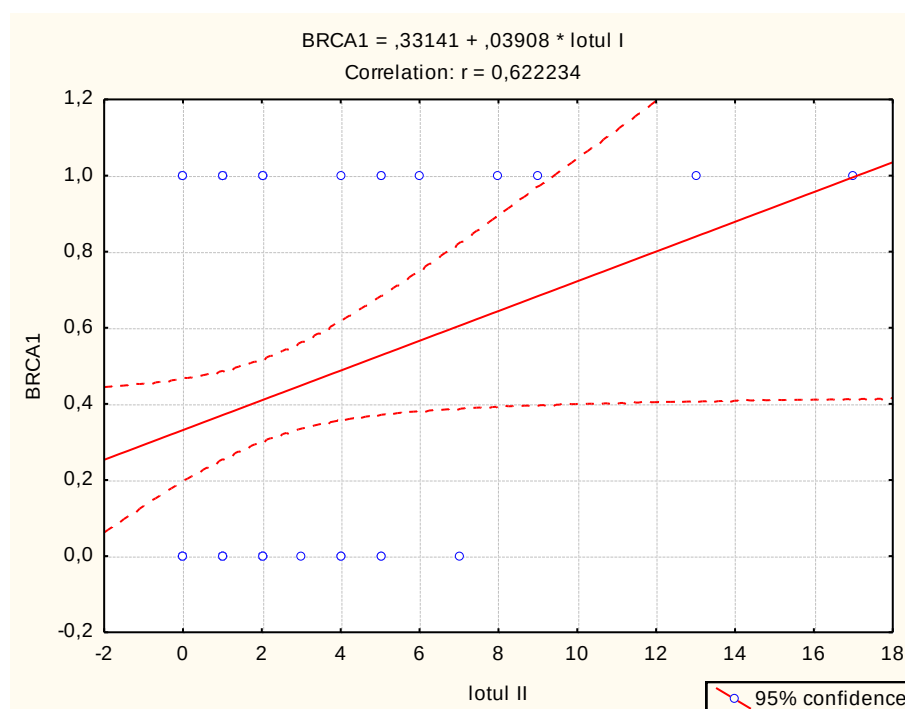


Figura 3.9 Corelarea prezenței mutației BRCA1 5382insC cu valorile limfocitelor T CD8 la pacientele din lotul II

Putem concluziona, că mutațiile în gena BRCA1 condiționează o imunosupresie generală cu micșorarea reacției imune a organismului. Posibil, că această diferență înregistrată pentru T limfocitele CD8, este cauzată nu numai de influența antigenelor BRCA1, dar și de acțiunea costimulatoare a T limfocitelor CD4, asupra cărora DZ acționează în mod invers, decât asupra T limfocitelor CD8. Astfel, proliferarea programată a T limfocitelor CD4 în cadrul CGM indusă de către hiperglicemie și mutația genei BRCA1 va atenua creșterea și maturizarea limfocitelor T CD8, iar în cadrul CGM fără DZ tip 2, induce proliferarea T limfocitelor CD8 cu suprimarea, posibil secundară, a T limfocitelor CD4.

Din rândul indicilor de bază ce caracterizează statusul imun face parte și *raportul între celulele helper CD4 și limfocitele supresoare CD8*. Aceste subpopulații, interacționând cu celulele efectoare, determină stimularea sau supresia dezvoltării reacțiilor imune.

Este cunoscut faptul, că persoanele sănătoase posedă un coeficient înalt de diferențiere al limfocitelor, ce semnifică predominarea T limfocitelor CD8 asupra T limfocitelor CD4. Un astfel de raport a fost observat de noi la pacientele cu CGM fără diabet zaharat (tabelul 3.5).

Tabelul 3.5

Concentrația T limfocitelor CD4 și CD8 la pacientele incluse în studiu

Loturile de studiu		Coeficientul de diferențiere (CD4/CD8)				
		<1	1 – 2	2 – 3	>3	p _{A-B}
CGM asociat cu DZ tip 2		15 (14,01%)	76 (71,02%)	13 (12,15%)	3 (2,80%)	-
A	BRCA15382insC+	7 (50,0%)*	4 (28,57%)	2 (14,28%)*	1 (7,14%)	*<0,01
B	BRCA1 5382insC-	17 (34,0%)*	14 (28,0%)	12 (24,0%)*	7 (14,0%)	
CGM fără DZ tip 2		10 (7,19%)	46 (33,82%)	69 (49,64%)	14 (10,07%)	
C	BRCA15382insC+	2 (40,0%)**	2 (40,0%)**	1 (20,0%)	0	**<0,05
D	BRCA1 5382insC-	13** (33,33%)	13 (33,33)**	7 (17,94%)	6 (15,38%)**	
Total		25 (21,20%)	122 (65,85%)	82 (61,69%)	17 (12,87%)	-
Valoarea indicelui p _{I-II}		<0,01	<0,001	<0,001	<0,01	-
Corelarea cu BRCA1 (r)		r=0,98 <0,001	r=0,92 <0,01	r=0,73 <0,05	r=-0,67 <0,05	-

În studiul efectuat, coeficientul de diferențiere >3 a fost depistat de 5 ori mai rar la pacientele cu CGM și DZ tip 2 (2,8%), decât la paciente nondiabetice (10,07%), cu diferență statistică semnificativă ($p_{I-II} < 0,01$). Rata pacientelor cu coeficientul de diferențiere >1 a fost de 2 ori mai mare la pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat, față de cele care nu suferă de DZ tip2 (14,01% vs 7,1%), ($p < 0,01$). La paciente din lotul I coeficientul de diferențiere CD4/CD8 cu valori 1 - 2 s-a înregistrat la 71,02% vs 33,82%, ceea ce e de 2 ori mai mult în comparație cu pacientele lotului II, cu valori 2 – 3 – la 12,15% în lotul I vs 49,64% - în lotul II ($p_{I-II} < 0,001$).

Așadar, putem constata, că marea majoritate a pacientelor cu CGM și DZ tip 2 au prezentat coeficienți scăzuți de diferențiere limfocitară (1 și 1 - 2) - în 85,03%, pe când 59,71% paciente cu CGM fără DZ au prezentat coeficienți înalți de diferențiere limfocitară (2 - 3 și >3), fapt ce demonstrează rolul nociv al diabetului zaharat asupra statusului imun la pacientele cu CGM ($p_{I-II} < 0,001$).

Analiza particularităților statusului imun celular nespecific (CD3, CD4, CD8) constată o micșorare considerabilă a valorilor determinantelor respective cu o diferență statistică semnificativă, fapt ce

demonstrează repercursiunea diabetului zaharat asupra imunității pacienților cu CGM (figurile 3.10 și 3.11).

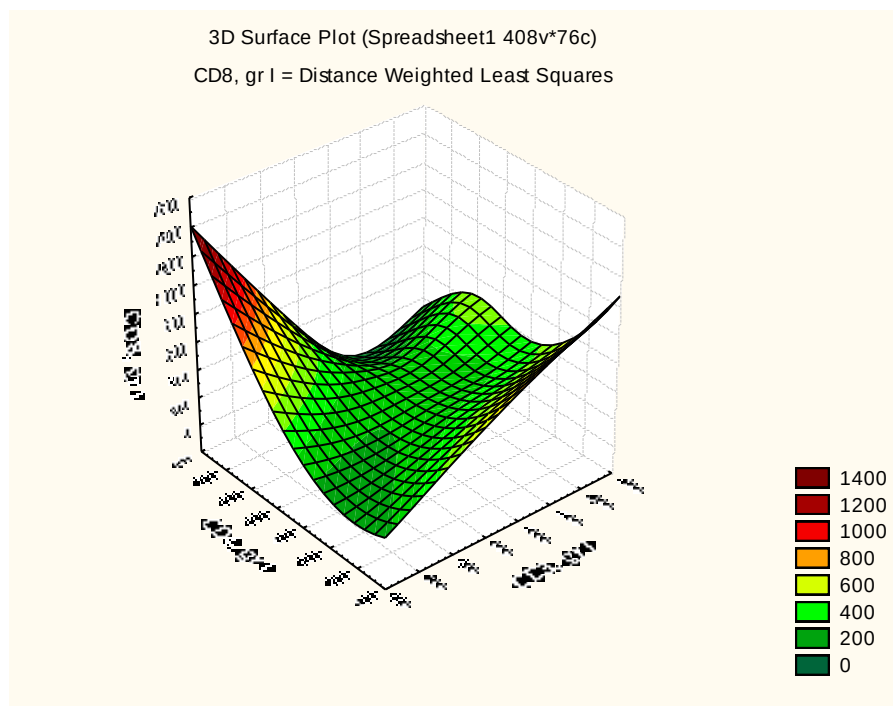


Figura 3.10. Repartiția spațială a valorilor T limfocitelor CD3, CD4 și CD8 în lotul I (CGM și DZ tip 2)

În studiul efectuat, la paciențele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 s-a atestat un grad înalt de corelare al schimbărilor imune celulare nespecifice cu prezența mutației în gena BRCA1.

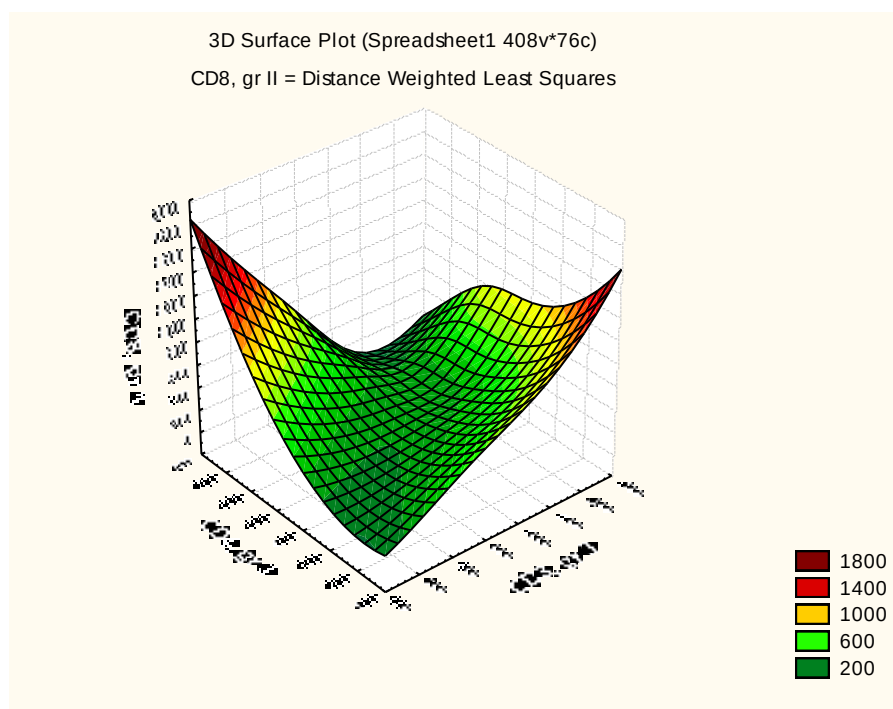


Figura 3.11. Repartiția spațială a valorilor T limfocitelor CD3, CD4 și CD8 în lotul II (CGM fără DZ tip 2)

Se poate de constatat, că modificările imunodepresive în CGM asociat cu DZ tip 2 se datorează, nu în ultimul rând, efectului sumar al multiplexelor dereglări caracteristice ambelor patologii asupra statusului imunocompetent.

3.3. Particularitățile statusului imun celular antitumoral și 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. Celulele NK joacă un rol important în imunitatea înăscută și dobândită, nu numai prin capacitatea lor de a liza celulele tumorale sau infectate, dar și prin secreția de citokine, care contribuie la răspunsurile adaptative directe. În acest fel T limfocitele CD16 sunt implicate direct în citotoxicitatea celulelor neoplazice.

Tabelul 3.6 **Concentrația T limfocitelor CD16 la pacientele lotului de studiu**

Loturile de studiu		Concentrația T limfocitelor CD16, %			
		<14 (valori scăzute)	14-20 (valori medii)	> 20 (valori înalte)	P
CGM asociat cu DZ tip 2		42 (39,25%)	58 (54,20%)	7 (12,87%)	-
A	BRCA1 5382insC +	11 (78,57%)*	3 (21,42%)*	0	*<0,01
B	BRCA1 5382insC -	34 (68,0%)*	13 (26,0%)*	3 (6,0%)	
CGM fără DZ		28 (20,14 %)	55 (39,56%)	56 (40,31%)	-
C	BRCA1 5382insC +	4 (80,0%)**	1 (20,0%)**	0	**<0,01
D	BRCA1 5382insC -	24 (61,53%)**	11 (28,20%)**	4 (10,25%)**	
Total		70 (28,45%)	113 (45,93%)	63 (25,60%)	-
Valoarea indicelui p _{I-II}		<0,01	<0,01	<0,01	-
Corelarea cu BRCA1 (r)		r=0,99 <0,001	r=0,92 <0,005	r=-0,83 <0,01	-

Analizând concentrația T limfocitelor CD16 la pacientele incluse în studiu, am obținut valori scăzute (<14 %) la 28,45% paciente, valori medii (14-20 %) - în 45,93% și valori înalte (>20%) - în 25,60% cazuri. Concentrația T limfocitelor CD16 în loturile de studiu a prezentat valori scăzute la paciente lotul I - 39,25% vs 20,14 %, ceea ce e de 2 ori mai mult în comparație cu lotul II ($p_{I-II} < 0,01$). Valori medii s-au stabilit în 54,20% vs 39,56% ($p_{I-II} < 0,01$) și valori înalte doar în 12,87% vs 40,31%, ce e de 3 ori mai puțin la pacientele cu CGM și DZ, în comparație cu pacientele fără DZ ($p_{I-II} < 0,01$). Datele obținute demonstrează o modificare esențială în statusul imun antitumoral la pacientele ce suferă de cancer mamar asociat cu DZ tip 2 (tabelul 3.6).

În așa fel, putem constata o micșorare vădită a indicilor imunității antitumorale la pacientele cu CGM și DZ tip 2, comparativ cu pacientele cu CGM fără DZ. O explicație pentru o astfel de scădere a activității celulelor CD16 se poate baza pe nivelurile crescute ale factorului de transformare a creșterii (TGF)- β și PGE2 în diabetul zaharat, ambele inhibând activitatea celulelor CD 16. Astfel, se poate explica rolul DZ ca factor patogenetic în declanșarea neoplaziilor. O altă explicație pentru funcționarea defectuoasă a acestor celule în ambele patologii studiate implică un grup de receptori inhibitori ai celulelor *killer-ucigașe*. Acești receptori recunosc antigenele complexului major de histo-compatibilitate de clasa I (MHC-I), care inhibă activitatea citotoxică contra celulelor ”ținta”, care exprimă MHC-I sub acțiunea receptorului HER2/neu.

Reprezentarea grafică a acestor valori a demonstrat prevalența pacienților cu valori scăzute ale limfocitelor CD16 în lotul I (CGM în asociere cu DZ tip 2), în comparație cu lotul II (CGM fără DZ) (figura 3.12)

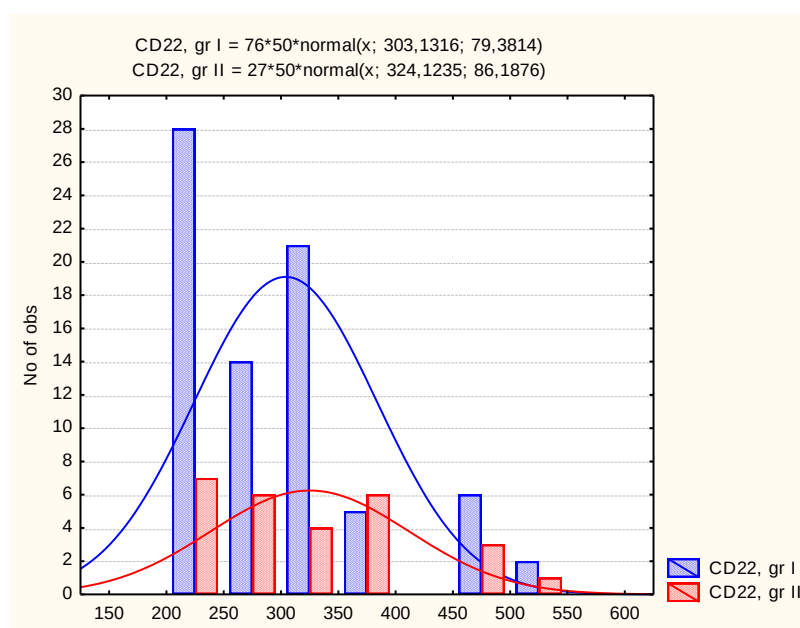


Figura 3.12. Repartiția valorică a T limfocitelor CD16 între grupurile pacienților cu CGM

Pentru caracteristica generală a statusului imunocelular în cadrul CGM este necesar de analizat corelarea genei BRCA1 cu valorile T limfocitelor CD16.

Analiza corelării factoriale a concentrației T limfocitelor CD16 cu prezența mutației 5382insC în gena BRCA1 la paciențele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 a relevat valori scăzute în 78,57% cazuri grupul A vs 68,0% cazuri - în grupul B ($p_{A-B} < 0,01$), valori medii - în 21,42% vs 26,0% cazuri ($p_{A-B} < 0,01$). În grupul A nu s-au atestat valori înalte ale concentrației T limfocitelor CD16, față de grupul B în care valori înalte s-au depistat la 6,0% paciente (fig 3.13).

Analiza corelării factoriale a concentrației T limfocitelor CD16 cu prezența mutației 5382insC în gena BRCA1 la paciențele cu cancer mamar fără diabet zaharat tip 2 a relevat valori scăzute în 80,0% cazuri în grupul C, față de 61,53% cazuri – în grupul D ($p_{C-D} < 0,01$), valori medii s-au atestat în 20,0% și, respectiv, în 28,20% cazuri ($p_{C-D} < 0,01$).

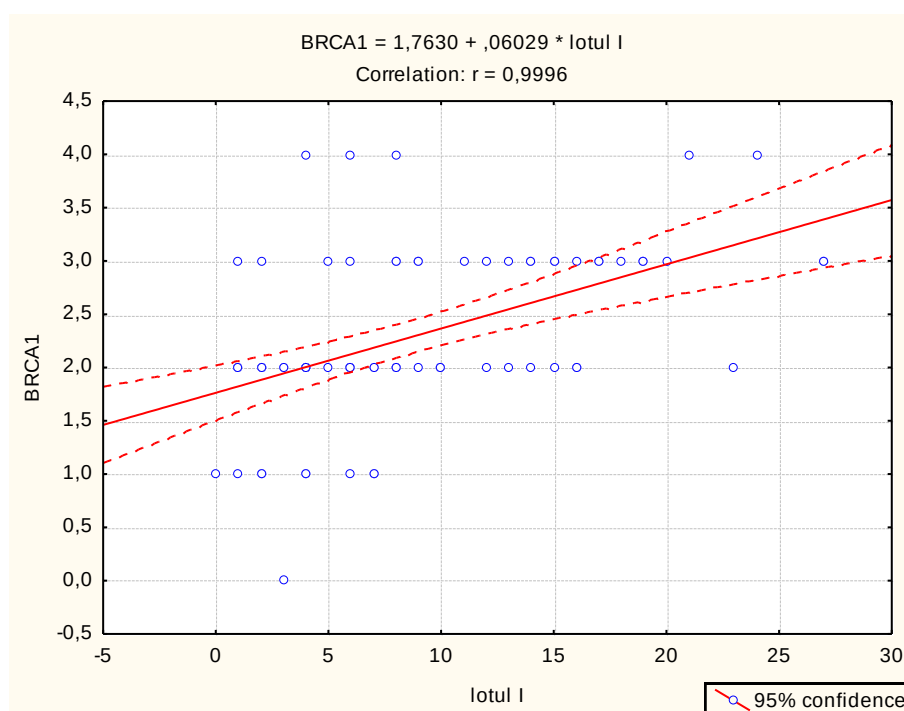


Figura 3.13 Reprezentarea grafică a corelării factoriale a genei BRCA1 cu valorile medii relative ale limfocitelor CD16 la paciențele din lotul I

Nu s-au atestat valori înalte ale concentrației T limfocitelor CD16 în grupul C, față de 10,25% depistate în grupul D ($p_{C-D} < 0,01$) (figura 3.14).

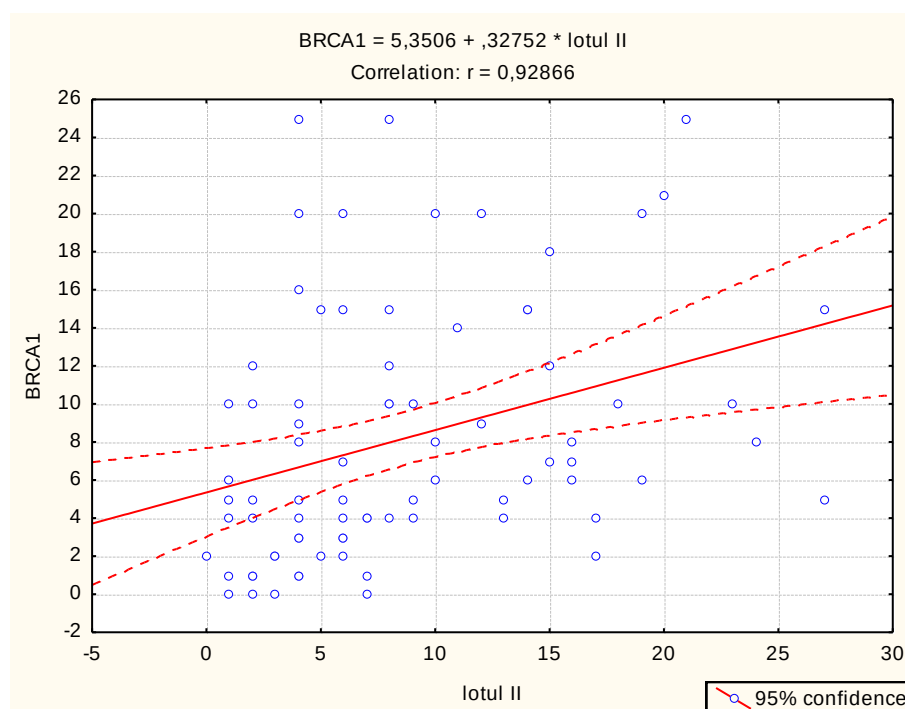


Figura 3.14 Reprezentarea grafică a corelării factoriale a genei BRCA1 cu valorile medii relative ale limfocitelor CD16 la paciențele din lotul II

Analiza factorială prin metoda ANOVA cu parametrizarea limitată prin σ a genei BRCA1 în CGM, în funcție de nivelul T limfocitelor CD16, constată indicele de corelare 0,99 pentru valorile scăzute în lotul pacienților cu CGM și DZ tip 2 ($p < 0,001$) și indicele de corelare 0,92-pentru valori medii ale limfocitelor CD16 ($p < 0,005$). Pentru valorile înalte ale concentrației T limfocitelor CD16 am obținut o corelare invers proporțională cu imunitatea antitumorală și prezența diabetului zaharat - $r = -0,83$.

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 și în cazul pacienților cu CGM, mai ales în asocierea DZ de tip 2.

Conform părerilor diferitor autori, tratamentul neoadjuvant specific ar modifica esențial statusul imun al pacienților cu CGM. Cercetările efectuate în acest domeniu sunt diverse și contradictorii [35, 175].

Pentru omiterea erorilor în interpretarea rezultatelor obținute, am studiat și influența tratamentului neoadjuvant asupra statusului imun al pacienților incluse în studiu. Pacientele au fost repartizate în funcție de tratamentul neoadjuvant: paciențele care au administrat PCT neoadjuvantă, radioterapie neoadjuvantă, PCT și radioterapie și paciențele fără tratament preoperator (tabelul 3.7).

Tab. 3.7 Concentrația limfocitelor T în funcție de tratament neoadjuvant

Lotul pacientelor	Indicii relativi limfocitari CD (%), M±m			
Lotul I (n=107)	CD3	CD4	CD8	CD16
PCHT (n=55)	44,3±0,07	17,3±0,07	12,7±0,02	14,1±0,02
RT (n=6)	44,7±0,03	17,4±0,05	12,9±0,06	14,3±0,03
PCHT+RT (n=8)	41,5±0,04	16,8±0,04	13,6±0,03	13,9±0,04
Fără tratament (n=38)	47,8±0,07	17,9±0,05	13,6±0,05	14,9±0,03
Valoarea p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
TOTAL	44,57±0,05	17,35±0,05	13,2±0,04	14,3±0,03
Lotul II (n=139)	CD3	CD4	CD8	CD16
PCHT (n=96)	44,5±0,05	17,4±0,05	12,9±0,04	14,3±0,07
RT (n=7)	44,3±0,06	17,6±0,04	13,1±0,05	14,2±0,06
PCHT+RT (n=7)	42,2±0,02	17,1±0,03	13,5±0,06	14,2±0,05
Fără tratament (n=29)	48,1±0,04	17,3±0,07	13,8±0,04	14,5±0,04
Valoarea p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
TOTAL	44,75±0,05	17,35±0,06	13,35±0,04	14,3±0,05

În așa fel, analiza indicilor relativi medii ale claselor limfocitare CD3, CD4, CD8 și CD16 nu a relevat o diferență statistic semnificativă ($p>0,05$) în loturile de studiu în dependența de tratamentul neoadjuvant administrat. Acest fapt poate fi explicat, probabil, prin respectarea strictă a criteriilor de includere-excludere a pacientelor în cercetare (inclusiv a intervalului liber de tratament - 21 zile) și prin

faptul, că toate pacientele supuse tratamentului chirurgical au fost în stadiul de compensare sau subcompensare a tuturor funcțiilor somatice.

3.4. Concluzii la capitolul 3

1. Pacientele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 asociat prezintă o stare imunodeficitară, care se caracterizează prin insuficiența lanțului T-limfocitar general și T-limfocitar antitumoral, indusă de perturbările în cantitatea limfocitelor totale CD3, limfocitelor helper-efectoare CD4, limfocitelor supresoare-citotoxice CD8 și limfocitelor CD16. S-a stabilit existența corelării între micșorarea coeficientului de diferențiere T-helper/T-supresor și asocierea DZ tip 2 la pacientele cu CGM.
2. Rezultatele studiului au confirmat existența diverselor modificări în sistemul imun la pacientele cu CGM în prezența mutației 5382insC în gena BRCA1 și asocierea DZ de tip 2. Ipoteza etiopatogenetică se rezumă la prezența unei predispoziții genetice cât în CGM, atât și în DZ tip 2, iar intervenția unor factori de mediu este capabilă să declanșeze maladia, care mai apoi este autoântreținută prin mecanisme imunopatologice, în modularea cărora intervin și alți factori.
3. În baza rezultatelor obținute s-a constatat, că organismul uman are o anumită susceptibilitate genetică și la intervenția factorilor de mediu ar fi capabil să declanșeze un mecanism imun de diferită intensitate, manifestat printr-o disbalanță a celulelor imunocompetente (CD4, CD8 și CD16), mecanisme ce stau la baza imunității antitumorale.
4. Pentru pacientele cu CGM au fost caracteristice un șir vast de modificări imunopatologice corelate cu prezența mutației 5382insC în gena BRCA1, care au fost agravate de influența DZ tip 2 asociat. Ultimul, având o influență majoră asupra imunodepresiei celulare cu caracter general nespecific și repercusiuni manifeste asupra imunității antitumorale condiționează scăderea severă a concentrației T limfocitelorlor CD16 în sângele periferic.

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

4.1. Particularități de vârstă și funcția reproductivă la pacientele cu CGM și DZ asociat

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

Pacientele investigate au fost repartizate conform intervalului de vârstă (tabelul 4.1).

Tabelul 4.1 Repartizarea pacientelor incluse în studiu în funcție de vârstă

Lotul pacientelor	Intervalul de vârstă			
	40-49 ani	50-59 ani	60-69 ani	> 70 ani
Lotul I (n-107)	4 (3,74%)	31 (28,97%)	61 (57,01%)	11 (10,28%)
Lotul II (n-139)	15 (10,79%)	59 (42,45%)	41 (29,5%)	24 (17,27%)
P	<0,05	<0,01	<0,01	<0,05

Evaluând vârsta pacientelor din lotul de studiu au fost constatate următoarele: în intervalul de vârstă 40-49 ani s-au adresat 3,74% pacientele din lotul I și de 3 ori mai multe paciente din lotul II - 10,79%, în intervalul de vârstă 50-59 ani s-au adresat 28,97% și, respectiv, 42,45% paciente. Vârsta de la 60-69 ani au avut-o de 2 ori mai frecvent pacientele din lotul I – 57,01%, față de celea din lotul II - 29,5% cazuri. În limitele de vârstă peste 70 de ani s-au depistat 10,28% și, corespunzător, 17,27% cazuri. Așadar, între toate intervalele de vârstă în loturile de studiu s-au depistat diferențe semnificativ veridice.

Analizând particularitățile funcției reproductive la pacientele lotului de studiu am obținut următoarele date: menarhă până la 12 ani s-a stabilit la 35,2% paciente din lotul I și la 25,3% paciente - din lotul II cu diferență statistică veridică ($p < 0,05$); menarhă de la 12-14 ani au avut 60,1% paciente din lotul I și 53,2% paciente - din lotul II ($p < 0,05$). Menarhă tardivă, după 14 ani au avut 4,7 % paciente din lotul I și de 5 ori mai frecvent - 21,5% - din lotul II ($p < 0,01$).

Deci, pentru pacientele investigate vârsta menarhei a jucat un rol important în dezvoltarea CGM.

Analiza corelațională între depistarea CGM la pacientele din loturile studiate cu perioada biologică a organismului a demonstrat, că în perioada reproductivă se aflau doar 3,74% paciente cu CGM și DZ tip 2 și de 3 ori mai frecvent - 10,79% - paciente cu CGM fără DZ. Pentru această perioadă biologică s-a stabilit diferență veridică ($p<0,05$). În perioada premenopauzală au fost depistate 28,97% paciente din lotul I și 42,45% paciente - din lotul II ($p<0,01$).

În perioada menopauzală s-au depistat de 2 ori mai multe paciente din lotul I, față de lotul II (57,01% și 29,50%), ($p<0,01$), iar în perioada postmenopauzală, se aflau 10,28% și 17,27% paciente ($p<0,05$) (tabelul 4.2).

Tabelul 4.2 Repartizarea pacientelor lotului de studiu conform perioada biologice

Lotul pacientelor		Perioada biologică			
		Perioada reproductivă	Premenopauză	Menopauză	Post-menopauză
Lotul I (n=107)		4 (3,74%)	31 (28,97%)	61 (57,01%)	11 (10,28)
A	BRCA1 5382insC +	2 (14,28%)	5 (35,71%)	5 (35,71%)	2 (14,28%)
B	BRCA1 5382insC -	2 (4,0%)	16 (32,0%)	23 (46,0%)	9 (18,0%)
p _{A-B}		<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
Lotul II(n=139)		15 (10,79%)	59 (42,45%)	41 (29,5%)	24 (17,27%)
C	BRCA1 5382insC +	4 (80,0%)	1 (20,0%)	0	0
D	BRCA1 5382insC -	9 (23,07%)	13 (33,33%)	13 (33,33%)	4 (10,25%)
p _{C-D}		<0,01	<0,05	<0,05	<0,05
p _{I-II}		<0,05	<0,01	<0,01	<0,05
R		r=0,98 p<0,01	r=0,88 p<0,01	r=0,72 p<0,05	r=0,75 p<0,05

În așa fel, putem concluziona, 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 diabetul zaharat.

Dacă ne referim la depistarea prezenței mutației BRCA1 5382insC în dependență de perioada biologică a pacienților cu CGM și DZ tip 2, atunci la pacientele tinere, aflate în perioada reproductivă am constatat de 3 ori mai frecvent mutația în gena BRCA1 - 14,28% cazuri - în grupul A, și doar în 4,0% cazuri - în grupul B ($p < 0,05$), în perioada premenopauzală - 35,71% vs 32,0% ($p > 0,05$), în perioada menopauzală 35,71% vs 46,0% cazuri ($p < 0,05$) și în perioada postmenopauzală - 14,28% vs 18,0% ($p < 0,05$).

Pacientele nondiabetice aflate în perioada reproductivă în 80,0% cazuri au prezentat mutația înaltpenetrantă în gena BRCA1 (grupul C), ce e de 3 ori mai frecvent față de pacientele grupului D - 23,07% ($p < 0,05$), în perioada premenopauzală mutația în gena respectivă s-a depistat în 20,0% vs 33,33% cazuri ($p > 0,05$). La pacientele din lotul II aflate în perioada menopauzală și postmenopauzală nu s-au depistat aceste mutații.

Așadar, 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.

Analiza gradului de corelare al prezenței mutației majore cu perioada biologică a pacienților lotului de studiu a prezentat cei mai înalți indici de corelare în perioada reproductivă $r = 0,98$ ($p < 0,01$) și premenopauzală $r = 0,88$ ($p < 0,01$). În perioada menopauzală și postmenopauzală gradul de corelare e mai scăzut $r = 0,72$ și $r = 0,75$ ($p < 0,05$).

4.2. Aprecierea parametrilor ponderali ai pacienților incluse în studiu

Afecțiunile hormono-metabolice, așa cum sunt obezitatea, diabetul zaharat și maladia hipertensivă, patologii ce sunt adesea însoțite de tulburări ale funcției suprarenalelor, reprezintă verigile patogenetice de bază atât în declanșarea cancerului glandei mamare, cât și a diabetului zaharat. Aceste relatări ne-au sugerat ideia de a studia gradul de obezitate al pacienților prin determinarea indicelui masei corporale (IMC, *Body mass index*, indicele lui Quetelet) (tabelul 4.3), care este un indicator statistic al masei unei persoane raportată la înălțimea persoanei respective, ce se calculează după formula: (formula 4.1)

$$BMI = \frac{greutate \text{ (kg)}}{inaltime^2 \text{ (m)}} \quad (4.1)$$

Tabelul 4.3

Valorile indicelui masei corporale (după Quetelet)

Valorile IMC	Gradul de pondere
sub 18,5	Subponderalitate
între 18,5 si 24,9	greutate normal
între 25 si 29,9	Supraponderalitate
peste 30	Obezitate

Analiza parametrilor IMC a pacientelor lotului de studiu a demonstrat că IMC >30,0 (obezitate) a prezentat practic fiecare a doua pacientă cu cancer mamar care suferă și de diabet zaharat - 57,94%, față de pacientele fără diabet zaharat, care sufereau de obezitate de 4 ori mai puțin, doar în 17,27% cazuri ($p<0,01$). IMC în limitele 25,0-29,9 (suprapondere) au avut practic același număr de paciente din ambele loturi- 31,78% și, respectiv, 31,65%. Greutate normală cu IMC în limitele 18,5-24,9 s-a înregistrat de 5 ori mai rar la pacientele cu diabet zaharat - doar în 10,28% cazuri, comparativ cu pacientele fără diabet zaharat - 49,64%, IMC <18,5 nu a prezentat nici o pacientă din lotul I și doar în 1,44% cazuri - din lotul II (tabelul 4.4).

Tabelul 4.4.

Valoarea indicelui masei corporale la pacientele incluse în studiu

Lotul pacientelor	Indicele masei corporale			
	<18,5	18,5-24,9	25,0-29,9	>30,0
Lotul I (n=107)	0	11 (10,28%)	34 (31,78%)	62 (57,94%)
Lotul II (n=139)	2 (1,44%)	69 (49,64%)	44 (31,65%)	24 (17,27%)
Valoarea indicelui p	>0,05	<0,01	>0,05	<0,01

Așa dar, majoritatea pacientelor cu cancer mamar, care suferă și de diabet zaharat 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 pacientelor cu cancer mamar

Este cunoscut deja faptul, că celula canceroasă prezintă particularități specifice ale metabolismului glucidic intracelular, manifestându-se prin necesități energetice crescute și utilizare intensă a glucozei. Pe lângă funcțiile sale metabolice, insulina și factorul de creștere IGF stimulează proliferarea celulelor neoplazice. Este foarte importantă incapacitatea organelor „ținta“, în cazul de față glanda mamară, de a raspunde în mod normal la acțiunea insulinei, prezentând consecințe diferite la nivelul fiecărei celule. Pentru noi a prezentat un mare interes studierea raportul dintre timpul de acțiune al DZ (vechimea), a gradului de compensare al acestuia cu momentul diagnosticării cancerului mamar.

În așa fel am stabilit, că la 17 paciente (16,0%) 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. Posibil, în aceste cazuri putem remarca și rolul stresului psihologic provocat de confirmarea diagnosticului de cancer în declanșarea diabetului. 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 (figura 4.1) .

Durata medie de existență a diabetului zaharat până la momentul depistării cancerului mamar a constituit $4,78 \pm 0,11$ ani.

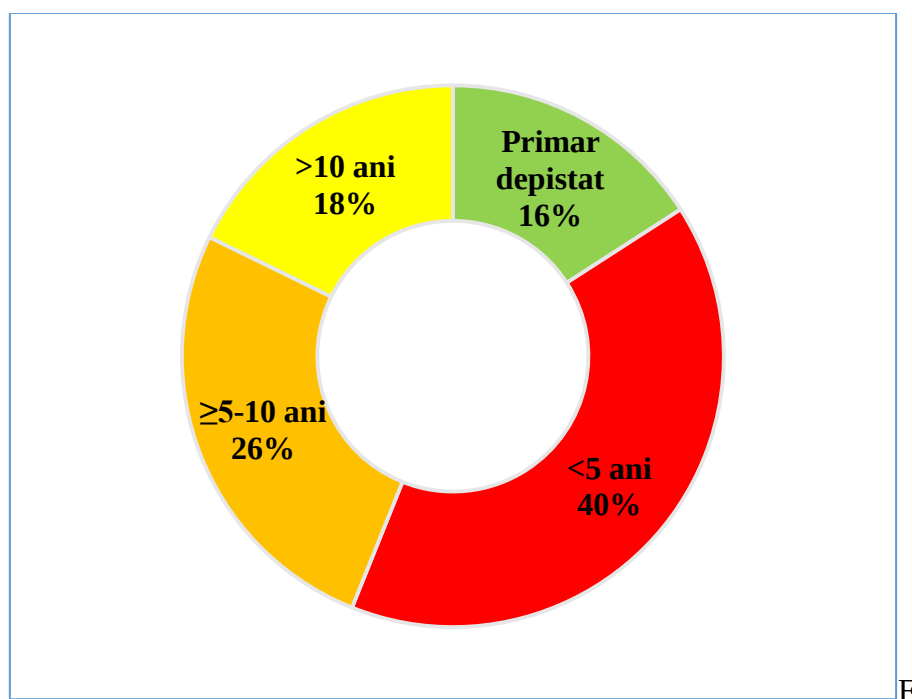


Fig 4.1 Vechimea diabetului zaharat în momentul diagnosticării cancerului mamar

Reamintim, că pentru a stabili gradul de compensare al diabetului în funcție de nivelul hemoglobinei glicozilate ne-am condus de Protocolului Clinic Național PCN 33 ”Diabetul zaharat necomplicat”, editat în anul 2008 și revăzut în 2012 și 2015. Diabetul zaharat poate fi clasificat în:

compensat - când hemoglobina glicozilată (HbA1c) are valoarea de 4% - 6%, subcompensat - 6,1 -7,5% și decompensat - >7,5%.

Analizând gradul de compensare al DZ tip 2 în dependență de valorile hemoglobinei glicozilate (HbA1c) am obținut următoarele rezultate: diabet zaharat 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 (tabelul 4.5)

Tabelul 4.5 Gradul de compensare al diabetului zaharat la pacientele cu CGM asociat cu DZ tip 2

Lotul pacientelor	Nivelul HbA1 (mmol/l)		
	4-6% (DZ compensat)	6,1-7,5% (DZ subcompensat)	>7,5% (DZ decompensat)
Pacientele cu CGM asociat cu 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

Pentru a stabili acțiunea terapiei neoadjuvante specifice asupra gradului de compensare al diabetului zaharat am studiat nivelul HbA1 la pacientele cu și fără tratament neoadjuvant. Diabet compensat au prezentat de 4 ori ai frecvent pacientele care nu au administrat tratament neoadjuvant, față de cele cu tratament- 73,9% și 18,4% ($p<0,01$).

Gradul mediu de compensare al diabetului a fost stabilit de 3 ori mai frecvent la pacientele care au suportat tratament specific preoperator (schemele clasice de tratament, 2 - 3 cicluri CMF, FAC) - 71,1% vs 21,7%, ($p<0,01$); grad decompensat au prezentat - 10,5% paciente cu tratament preoperator vs doar 4,3% din grupul pacientelor fără tratament neoadjuvant.

Datele obținute ar fi explicabile prin impactul de decompensare al statutului somatic precedent terapiei neoadjuvante, acțiunii hiperglicemiate a glucocorticosteroizilor, ce se utilizează în unele scheme de tratament și durata prolongată a stresului psihoemoțional.

4.4. Formele clinice și răspândirea procesului malign la paciențele incluse în studiu

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 paciențelor. Paciențele lotului de studiu au prezentat următoarele forme clinice ale cancerului mamar: forma nodulară (cu prezența unei tumori) a fost depistată la majoritatea paciențelor din ambele loturi -78,5% paciențe din lotul I vs 88,49% - paciențe din lotul II ($p>0,05$). Creșterea multicentrică (două tumori) a fost depistată de 2 ori mai frecvent la paciențele care sufereau și de diabet zaharat - 9,35%, față de cele fără DZ- 4,32% ($p<0,01$), (figura 4.2). Formele difuze (potențial mai agresive) ale cancerului glandei mamare au fost, de asemenea, de 2 ori mai frecvent înregistrate la paciențele lotul I - în 10,28% vs 5,04% - în lotul II ($p<0,01$), (figura 4.3).

Cancer de tip Paget a fost înregistrat în 1,87% cazuri lotul I vs 2,16% - paciențe lotul II ($p<0,01$).

În așa fel, putem constata, că formele clinice ale CGM cu un potențial de evoluție mai agresiv (forme cu creștere multicentrică și difuze) s-au depistat mai frecvent la paciențele cu CGM și DZ, față de paciențele fără DZ.



Fig. 4.2 Forma clinică de creștere multicentrică. Tumor cu destrucție.

CGM asociat cu DZ tip 2



Fig. 4.3 Forma clinică edem-inflamatorie CGM asociat cu DZ tip 2

Pe

ntu 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 (tabelul 4.6).

Extinderea procesului malign la pacientele cu cancer mamar are o mare importanță. Cu cât pacientele se adresează într-un stadiu mai incipient, cu atât șansele de supraviețuire sunt mai mari. La adresarea primară pacientele cu CGM au fost investigate clinic, instrumental și paraclinic cu stabilirea extinderii procesului malign și a stadiului maladiei.

Tabelul 4.6 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 prezența mutației BRCA1 (r)		r=0,45	r=0,98	r=0,95	r=0,51

La pacientele cu CGM după verificarea citologică sau morfologică a procesului malign, extinderea maladiei s-a determinat conform sistemului TNM, elaborat de OMS, ediția a VII, revăzută în 2010. Conform valorilor indicilor TNM a fost stabilit și stadiul maladiei. (tabelul 4.7).

Tabelul 4.7. Repartizarea pacienților incluse în studiu în funcție de stadiul maladiei (TNM)

Loturile de studio	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 II (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

S-au adresat în stadiul I al maladiei doar 10 paciente din ambele loturi, dintre care numai 1 pacientă (0,93%) cu CGM și DZ și 9 paciente (6,47%) - neafectate de diabet ($p < 0,01$). În stadiul II A s-au adresat 18,69% paciente cu CGM și DZ tip 2 și 32,37% paciente - fără DZ ($p < 0,05$). În stadiul II B au fost depistate practic același număr de paciente: 46,72% și, corespunzător, 47,48% cazuri ($p > 0,05$). În stadiile mai avansate ale maladiei –stadiul III A și III B s-au adresat semnificativ mai multe paciente cu diabet zaharat (9,34% și, respectiv, 24,29 %), față de pacientele fără diabet zaharat (3,59% și, respectiv, 10,07%) ($p < 0,01$)

Prin urmare, putem concluziona, că pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat sunt diagnosticate în stadii mai avansate ale procesului oncologic, stadiile II B, III A și III B, cu diferență statistică semnificativă. Acest fapt ar putea fi explicat și prin vigilența oncologică redusă la această categorie de paciente din motivul diabetului zaharat asociat, care necesită o conduită specială cotidiană, și prin agresivitatea procesului neoplazic.

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 ($p < 0,05$) (tabelul 4.8).

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% ($p < 0,01$).

Tabelul 4.8

Răspândirea locoregională al procesului malign corelată cu prezența mutației
BRCA1

Lotul de studiu		Adenopatie regională		
		N0	N1	N1-3
Lotul I (n=107)		23 (21,50%)	58* (54,21%)	26 (24,3%)
A	BRCA1 5382insC +	0	3 (21,42%)	11 (78,57%)
B	BRCA1 5382insC -	17 (34,0%)	26 (52,0%)	7 (14,0%)
p _{A-B}		<0,01	<0,01	<0,01
Lotul II (n=139)		51 (36,69%)	74 (53,24%)	14 (10,07%)
C	BRCA1 5382insC +	3 (60,0%)	2 (40,0%)	0
D	BRCA1 5382insC -	11 (28,2%)	21 (53,84%)	7 (17,94%)
p _{C-D}		<0,05	<0,01	<0,05
Valoarea indicelui p _{I-II}		<0,05	>0,05	<0,01
Corelarea cu BRCA1(r)		0,88	0,46	0,96

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.

La pacientele din grupul B, fără mutație în gena BRCA 1, fiecare a treia pacientă (34,0%), nu a prezentat adenopatie axilară - la fiecare a doua pacientă (52,0%) - au fost afectați doar ganglionii limfatici axilari și numai la 14,0% au fost afectați ganglionii limfatici axilari și subclaviculari.

Analiza comparativă corelațională dintre afectarea ganglionilor limfatici regionali și prezența mutației în gena BRCA1 la pacientele lotului I denotă, că afectarea regională a tuturor nivelurilor ganglionare (N1-3) a corelat semnificativ cu prezența mutației respective, cu indicele de corelare - 0,96 ($p < 0,01$). Lipsa afectării metastatice a ganglionilor limfatici (N0) la pacientele lotului II de studiu corelează semnificativ cu prezența mutației în gena BRCA1 ($r = 0,88$) ($p < 0,05$).

4.5. Caracteristica morfopatologică și imunohistochimică a cancerului la pacientele cu diabet zaharat asociat

Examenul morfopatologic furnizează diagnosticul de certitudine, care include descrierea tipului morfologic al tumorii, gradul de diferențiere, gradul de patomorfoză, starea țesutului tumoral adiacent, starea ganglionilor limfatici regionali etc. (figura 4.4, 4.5)

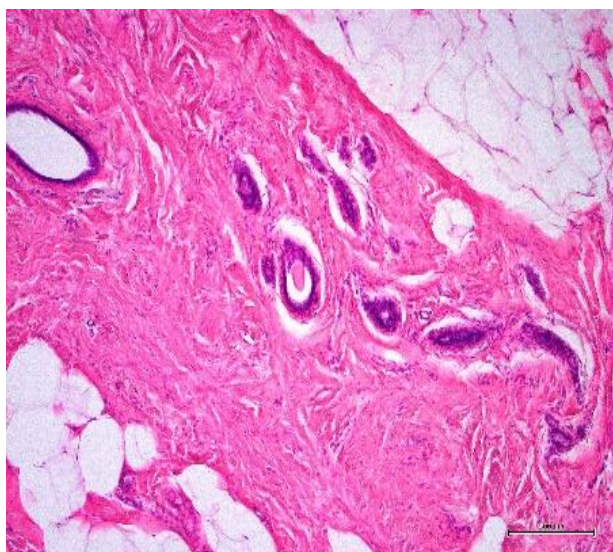


Fig. 4.4

Țesut extratumoral neafectat la pacienta cu CGM (carcinom invaziv nespecific) asociat cu DZ tip 2
Colorare H/E, 200 mcr×10

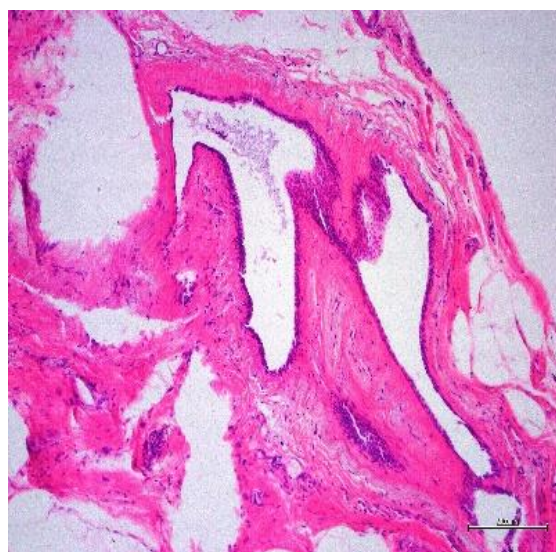


Fig. 4.5

Tesut extratumoral neafectat la pacientă cu CGM (carcinom lobular invaziv) asociat cu DZ tip 2
(colorarea H/E, 200 mcr×10)

Analizând formele morfopatologice ale CGM în lotul pacientelor incluse în studiu, am obținut următoarele datele: (tab. 4.9)

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 ($p < 0,01$). (figura 4.6, 4.7)

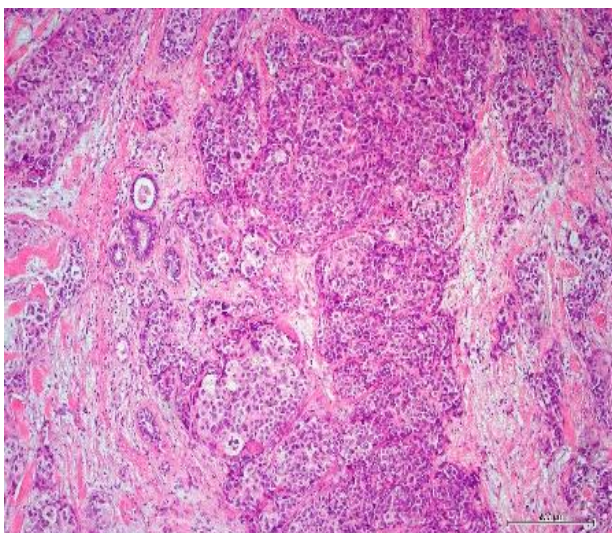


Fig. 4.6

Carcinom ductal invaziv la pacientă
cu DZ tip 2 .
Colorare H/E, 200 mcr×10

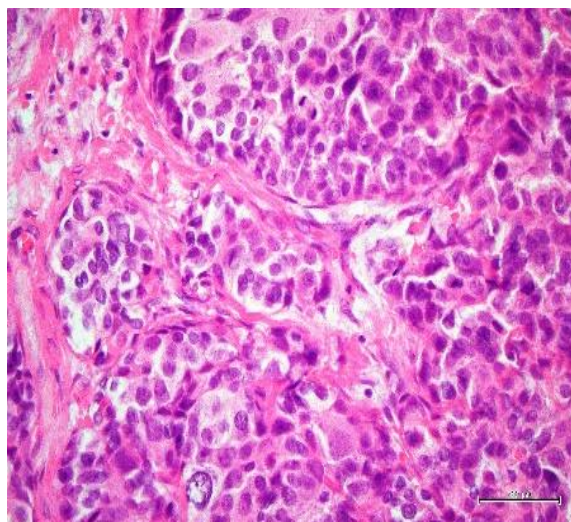


Fig.4.7

Carcinom ductal invaziv la
pacientă cu DZ tip 2
Colorare H/E, 200 mcr×40

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 ($p < 0,01$).

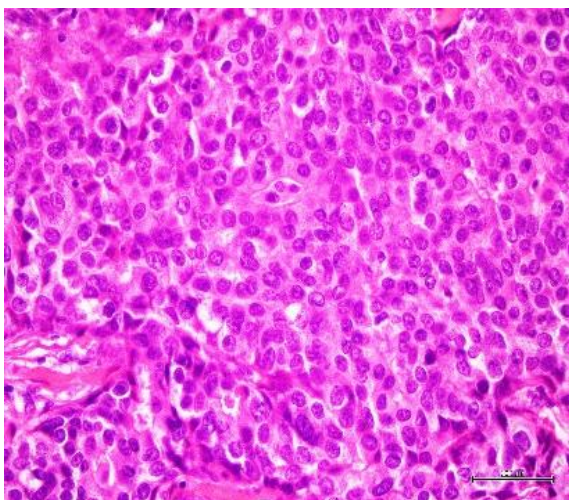


Fig. 4.8

Carcinom lobular invaziv
la pacientă cu CGM și DZ
(colorarea H/E, 200 mcr×40)

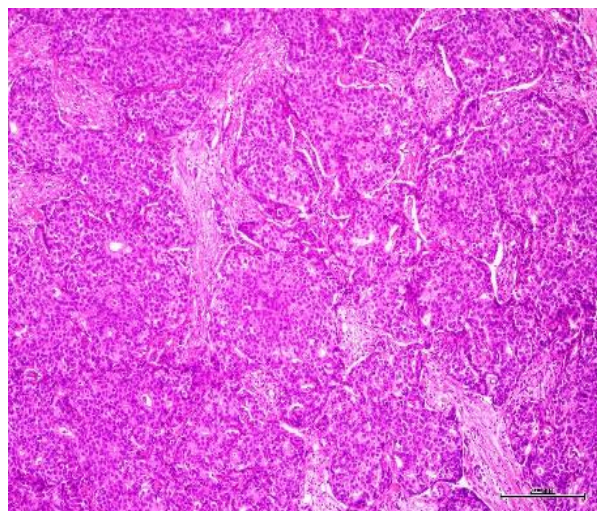


Fig. 4.9

Carcinom lobular invaziv
la pacientă cu CGM și DZ
(colorarea H/E, 200 mcr×10)

Formele mixte -asocierea carcinom ductal și lobular și tubulo-lobular - s-au depistat la fel de 2 ori mai frecvent - în 11 cazuri (10,28%) în lotul I vs 6 cazuri (4,31%) – în lotul II ($p < 0,01$) (fig 4.10, 4.11).

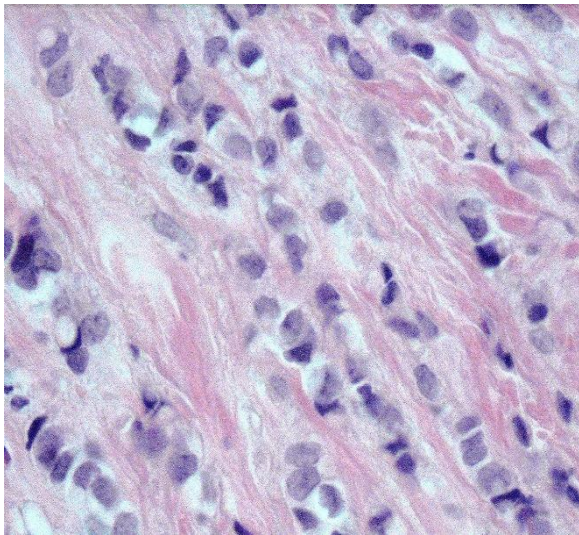


Fig. 4.10

Carcinom tubulo-lobular invaziv
la pacientă cu CGM și DZ
(colorarea H/E, 200 mcr×40)

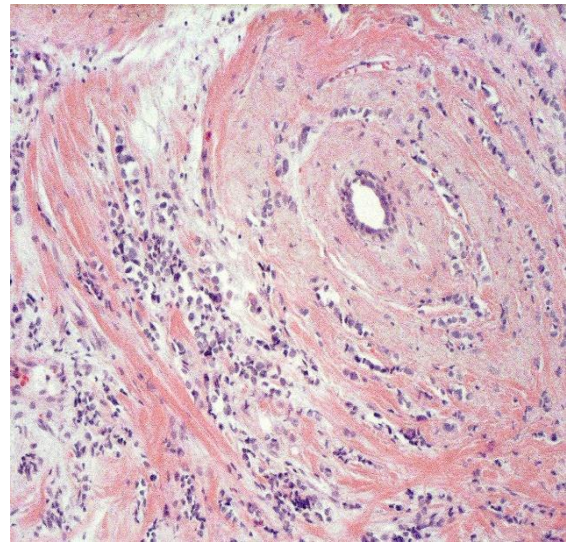


Fig. 4.11

Carcinom tubulo-lobular invaziv
la pacientă cu CGM și DZ
(colorarea H/E, 200 mcr×10)

Formele morfologice rare ale cancerului mamar: **carcinomul medular** a fost apreciat la 5paciente (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 în ambele loturi: 0,93%- în lotul I și 0,72%- în lotul II, fără diferență statistic semnificativă($p>0,05$). (figura 4.8, 4.9)

Patomorfoză pronunțată (gr. 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 formelor morfologice în dependență de prezența sau lipsa mutației BRCA1 5382insC a stabilit următoarele particularități: pacientele cu CGM și DZ cu prezența mutației genetice (grupul A) au prezentat indici considerabili mai mari pentru formele lobulare (care se consideră forme morfologice mai agresive) - 42,85%, ce e de 5 ori mai frecvent în comparație cu pacientele fără mutație genetică – 8,0% (grupul B). Carcinomul mucinos (cu caracter local de agresiune), descris ca formă mai rar întâlnită, a fost depistat de 3 ori mai frecvent în lotul A de paciente 14,28%, față de lotul B - 6,0% cazuri ($p<0,01$). (figura 4.12, 4.13)

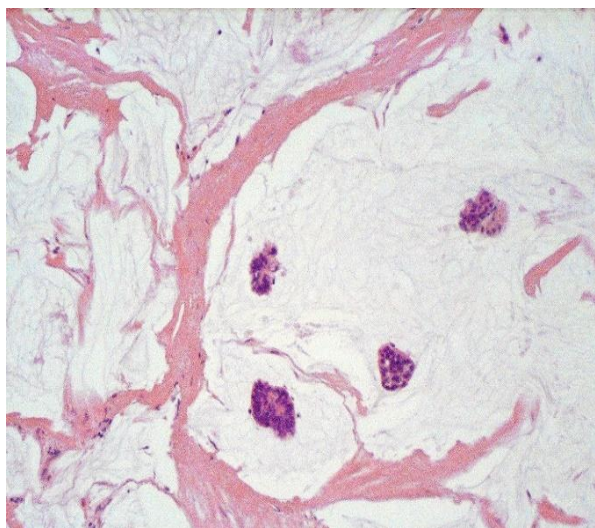


Figura 4.12

Carcinom mucinos la pacientă cu CGM și
DZ tip 2 (colorarea H/E, 200 mcr×10)

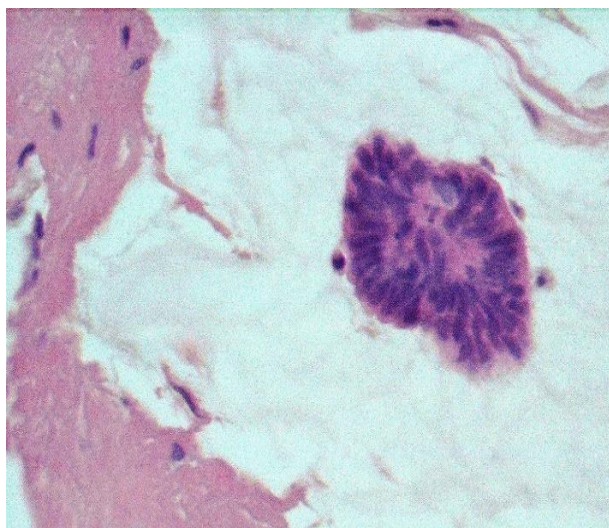


Figura 4. 13

Carcinom mucinos la pacientă cu CGM și
DZ tip 2 (colorarea H/E, 200 mcr×40)

Formele mixte (ductal-lobulare) s-au depistat de 2,3 ori mai frecvent - în 28,57% în grupul A, față de numai 12,0% - în grupul B ($p < 0,01$).

Pacientele ambelor loturi, la care a fost depistată mutația înaltpenetrantă în gena BRCA1, au avut cei mai înalți indici ai patomorfozei, de gradul IV - 14,28% și 20,0% cazuri ($p < 0,05$).

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 $r = 0,76$ ($p < 0,05$). (tabelul 4.9 A, 4.9 B)

Tabelul 4.9. A. Caracteristica morfologică a tumorilor corelată cu prezența mutației
BRCA1 5382insC

Lotul de paciente	Forma morfologică			
	Invaziv Ductal NS	Lobular	Ductal+ Lobular	Medular
Lotul I	61 (57,0%)	13 (12,1%)	11 (10,2%)	5 (4,67%)
grupul A	0	6 (42,85%)	4 (28,57%)	0
grupul B	35 (70,0%)	4 (8,0%)	6 (12,0%)	2 (4,0%)
p _{A-B}	<0,01	<0,01	<0,01	>0,05
Lotul II	110 (79,1%)	7 (5,03%)	6 (4,31%)	4 (2,88%)
grupul C	0	3 (60,0%)	1 (20,0%)	0
grupul D	28 (71,79%)	3 (7,69%)	4 (19,25%)	1 (2,56%)
p _{C-D}	<0,01	<0,01	>0,05	>0,05
p _{I-II}	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05
(r)	0,94	0,97	0,94	0,78
p	<0,01	<0,01	<0,01	<0,05

Tabelul 4.9. B. Caracteristica morfologică a tumorilor corelată cu prezența mutației

BRCA1 5382insC

Lotul de paciente	Forma morfologică			
	Mucinos	Tubular	Papilar	Pat.gr. IV
Lotul I	7 (6,54%)	1 (0,93%)	1 (0,9%)	8 (7,47%)
grupul A	2 (14,2%)	0	0	2 (14,2%)
grupul B	3 (6,0%)	0	0	0
p _{A—B}	<0,05	-	-	<0,01
Lotul II	4 (2,88%)	1 (0,72%)	1 (0,72%)	6 (4,31%)
grupul C	0	0	0	1 (20,0%)
grupul D	2 (5,12%)	0	1 (2,56%)	0
p _{C-D}	<0,01	-	>0,05	<0,05
p _{I-II}	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05
(r)	0,93	0,43	0,47	0,76
P	<0,01	>0,05	>0,05	<0,05

Analizând repartizarea pacientelor conform tipului histologic de creștere a tumorii am obținut următoarele date: formele solide și schiroase ale tumorilor au fost depistate preponderent egal în ambele loturi: 40,19% și, respectiv 38,32 % - în lotul I și 46,04% și 43,88% - în lotul II, fără semnificație statistică ($p>0,05$), (tabelul 4.10 A, 4.10 B).

Tabelul 4.10. A. Repartizarea pacienților conform tipului histologic de creștere a tumorii, corelată cu prezența mutației BRCA1 5382insC

Lotul pacienților		Tipurile histologice de creștere			
		Solid	Schistos	Cribros	Tubular
Lotul I (n=107)		43 (40,19%)	41 (38,32%)	7 (6,5%)	4 (3,7%)
A	BRCA1 +	5 (35,71%)	2 (14,2%)	3 (21,4%)	0
B	BRCA1 -	25 (50,0%)	17 (34,0%)	1 (2,0%)	1 (2,0%)
Lotul II (n=139)		64 (46,04%)	61 (43,8%)	5 (3,60%)	2 (1,44%)
C	BRCA1 +	1 (20,0%)	-	1 (20,0%)	-
D	BRCA1 -	18 (46,15%)	15 (38,4%)	1 (2,56%)	2 (5,12%)
P		>0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Formele cribroase au fost depistate de 2 ori mai frecvent 6,54% - în lotul I, față de 3,60% - în lotul II, cele tubulare, respectiv, în 3,74% vs 1,44%, papilare - 4,67% vs 2,16% cazuri și glandulare - 4,67% vs 2,16%. Toate formele de creștere în ambele loturi au prezentat diferență statistic semnificativă ($p < 0,05$). Datele relatate sunt prezentate în tabelul 4.10.

Tabelul 4.10. B. Repartizarea pacientelor conform tipului histologic de creștere a tumorii, corelată cu prezența mutației BRCA1 5382insC

Lotul pacientelor		Tipurile histologice de creștere		
		Papilar	Glandul	Mucoid
Lotul I (n=107)		5 (4,6%)	5 (4,6%)	2 (1,8%)
A	BRCA1 +	2 (14,2%)	0	2 (14,2%)
B	BRCA1 -	0	5 (10,0%)	1 (2,0%)
Lotul II (n=139)		3 (2,16%)	3 (2,16%)	1 (0,72%)
C	BRCA1 +	1 (20,0%)	1 (20,0%)	1 (20,0%)
D	BRCA1 -	1 (2,56%)	1 (2,56%)	1 (2,56%)
P		<0,05	<0,05	>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 imunohistochimică mai poate evalua factorii cu valoare predictivă asupra tratamentului, precum receptorii de estrogen (RE), receptorii de progesteron (RP) și HER2/neu.

Cu scopul stabilirii particularităților biologice ale tumorilor, procedeu obligatoriu în individualizarea tratamentului, s-au apreciat RE, RP și proteina HER2/neu la pacientele lotului de studiu.

Pentru repartizarea pacientelor conform profilului imunohistochimic am utilizat clasificarea moleculară a cancerului glandei mamare (St Gallen 2015):

1. RE+/RP+/ HER2/neu - negativ (tip luminal A)
2. RE+/RP+/ HER2/neu +pozitiv (tip luminal B)
3. Subtipul HER2/neu + pozitiv (HER2/neu + pozitiv)
4. Subtipul RE– /RP–/ HER2/neu –negativ (triplu negativ)

La pacientele investigate în cadrul studiului am stabilit, că tipul luminal A (*RE+/RP+/HER2/neu - negativ*) a fost stabilit la 42,05% paciente cu CGM și DZ în comparație cu 56,83% - la cele nondiabetice.

Tipul luminal B (*RE+/RP+/HER2/neu + pozitiv*) 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 *HER2/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 (*RE- /RP- /HER2/neu - negativ*) a fost stabil în 21,49% paciente cu cancer mamar și diabet zaharat și de 2 ori mai puțin – numai la 11,51% - la pacientele nondiabetice ($p < 0,01$). (figura 4.14, 4.15)

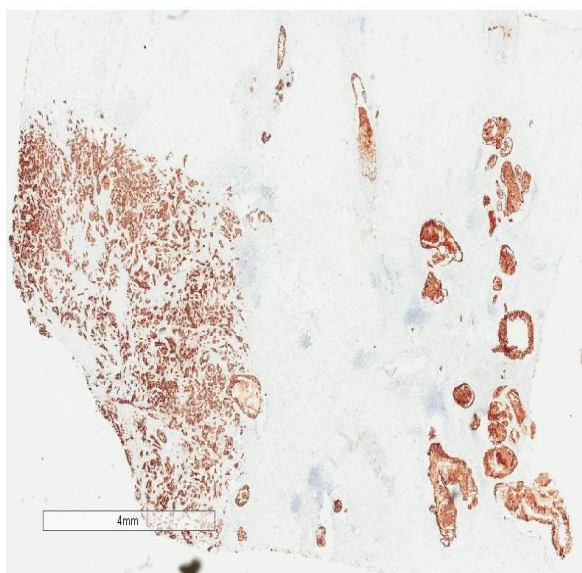


Fig. 4.14

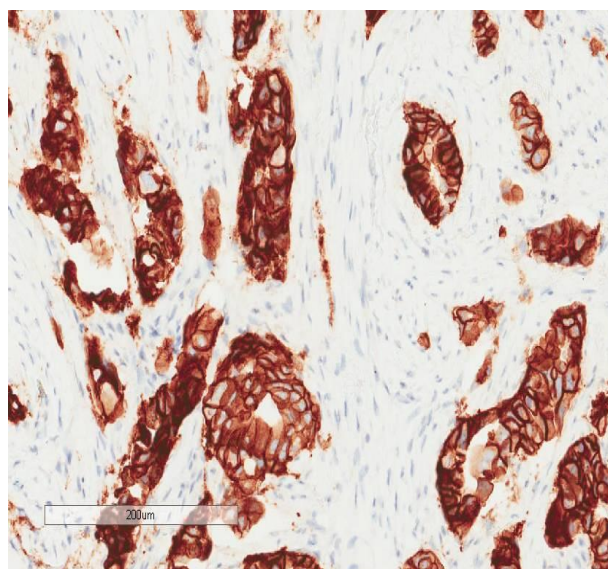


Fig. 4. 15

Expresia markerului imunohistochimic HER2/neu – grad înalt de expresie 3+ la pacientă cu CGM asociat cu DZ tip 2. (X100,X200)DAB;

Dacă concluzionăm cele relatate mai sus, putem constata predominarea formelor imunohistochimice cu un grad de agresiune sporit la pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat asociat (*HER2/neu + pozitiv* cu expresia negativă al RE și RP și *RE- /RP- /Her2- triplu negativ*), față paciente fără diabet zaharat, care au prezentat subtipuri moleculare cu un potențial mai puțin agresiv (*RE+/RP+/Her2*).

Analiza corelațională dintre profilul imunohistochimic cu prezența mutației în gena BRCA1 denotă o corelație semnificativă cu indicii de corelare $r = 0,79 - 0,82$ la pacientele ambelor loturi ($p < 0,01$), (tabelul 4.11).

Tabelul 4.11 Repartizarea pacientelor conform profilului imunohistochimic.
corelată cu prezența mutației BRCA1 5382insC după St Gallen, 2015

Profilul imunohistochimic	Lotul I (n=107)	Lotul II (n=139)	BRCA1 (r)	P
RE+/RP+/ HER2/neu – Tip luminalA	45 (42,05%)	79 (56,83%)	0,82	<0,05
BRCA1 5382insC +	1 (7,14%)	2 (40,0%)	0,89	<0,01
BRCA1 5382insC -	25 (50,0%)	22 (56,41%)	0,51	>0,05
RE+/RP+/ HER2/neu + Tip luminal B	12 (11,21%)	21 (15,1%)	0,85	<0,05
BRCA1 5382insC +	4 (28,57%)	1 (20,0%)	0,49	>0,05
BRCA1 5382insC -	9 (18,0%)	9 (23,07%)	0,79	<0,05
RE–/RP–/ HER2/neu + HER2 pozitiv	27 (25,23%)	23 (16,54%)	0,83	<0,05
BRCA1 5382insC +	5 (35,71%)	1 (20,0%)	0,76	<0,05
BRCA1 5382insC -	8 (16,0%)	4 (10,25%)	0,77	<0,05
RE– /RP–/ HER2/neu – Triplu negative	23 (21,49%)	16 (11,51%)	0,96	<0,01
BRCA1 5382insC +	4 (28,57%)	1 (20,0%)	0,81	<0,05
BRCA1 5382insC -	8 (16,0%)	4 (10,25%)	0,82	<0,05

4.6 Factorii de risc în prognosticul cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat asociat.

În rezultatul investigațiilor complexe efectuate și expuse în capitolele precedente am determinat valoarea factorilor decesivi de risc în prognosticul evoluției cancerului mamar la pacientele cu DZ 2.

Analiza factorială prin F-ratio a ponderii factorilor de risc decisivi în prognosticul evoluției cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat a determinat importanța majoră a următorilor indici: varianta moleculară imunohistochimică a tumorilor maligne, prezența mutației în gena BRCA1 5382 insC, dereglările în statusul imunității antitumorale și varianta morfologică a tumorilor. În această ordine de idei menționăm, că valori maxime ale F-ratio s-au constatat pentru subtipul imunohistochimic triplu negativ ($F=91,4$; $\%95F=98,5$) și subtipul HER2 neu + pozitiv ($F=87,5$; $\%95F=91,0$), urmate de prezența mutației 5382 insC în gena BRCA1 ($F=89,9$; $\%95F=96,5$), indicii imunității antitumorale CD16/25 ($F=82,7$; $\%95F=91,0$), urmate de scăderea CD8 ($F=69,4$; $\%95F=73,5$) și CD3/4 ($F=58,3$; $\%95F=62,5$), pe când valorile optime ale limfocitelor nu au jucat un rol important în predicția evoluției negative a CGM. Formele clinice difuze și nodulare cu creșterea multicentrică a tumorilor prezintă F-ratio $F=72,6$; $\%95F=81,0$ și, respectiv, $F=68,3$; $\%95F=75,0$. Ponderea formelor morfologice a constituit $F=74,3$; $\%95F=78,5$ pentru carcinomul lobular, $F=64,3$; $\%95F=68,5$ - pentru carcinomul mucinos și $F=61,9$; $\%95F=66,0$ - pentru carcinomul medular. Carcinomul invaziv nespecific (NST) și carcinomul invaziv tip tubular au prezentat o pondere F nesemnificativă de $F=23,1$; $\%95F=27,5$ și, respectiv, $F=21,6$; $\%95F=24,5$ (tabelul 4.12).

Utilizând F-testul Fisher am reușit să ierarhizăm 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 antitumorale 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 (RE- /RP- /HER2/neu -negativ) a fost stabil la 21,49% pacienți cu cancer mamar și diabet zaharat și de 2 ori mai puțin, numai la 11,51%-la pacientele fără diabet zaharat ($p<0,01$). Subtipul HER2/neu + pozitiv a fost depistat la 25,23% pacienți cu CGM și DZ și semnificativ mai puțin în lotul pacienților fără DZ în - 16,54% cazuri. În toate loturile de pacienți 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% pacienți cu CGM și DZ tip 2 și de 2 ori mai puțin, doar la 11,36 % pacienți fără diabet zaharat ($p<0,01$), plasând acest factor pe locul II.

Tabelul 4.12. 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
	<i>nodular multicentric</i>	68,3	75,0
	<i>forme difuze</i>	72,6	81,0
Tipului molecular imunohistochimic	tip luminal A	11,1	18,5
	tip luminal B	49,8	52,0
	<i>HER2 neu + pozitiv</i>	87,5	91,0
	<i>triplu negativ</i>	91,4	98,5
Formele morfologice	Nespecific	23,1	27,5
	<i>Lobular</i>	74,3	78,5
	<i>Ductal lobular</i>	54,7	59,0
	<i>Mucinos</i>	64,3	68,5
	<i>Medular</i>	61,9	66,0
	Tubular	21,6	24,5

Analizând concentrația T limfocitelor CD16 (celule cu impact considerabil în patogeneza neoplazică, care reprezintă, de fapt, imunitatea antitumorală a organismului), 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-}

$p < 0,01$), date ce demonstrează o modificare esențială în statusul imun antitumoral la pacientele ce suferă de cancer mamar 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 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 diabet zaharat a formelor potențial mai agresive pentru evoluția loco-regională și la distanță a maladiei (tabelul 4.12).

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 decisiv 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 cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat este reprezentată în figura 4.16

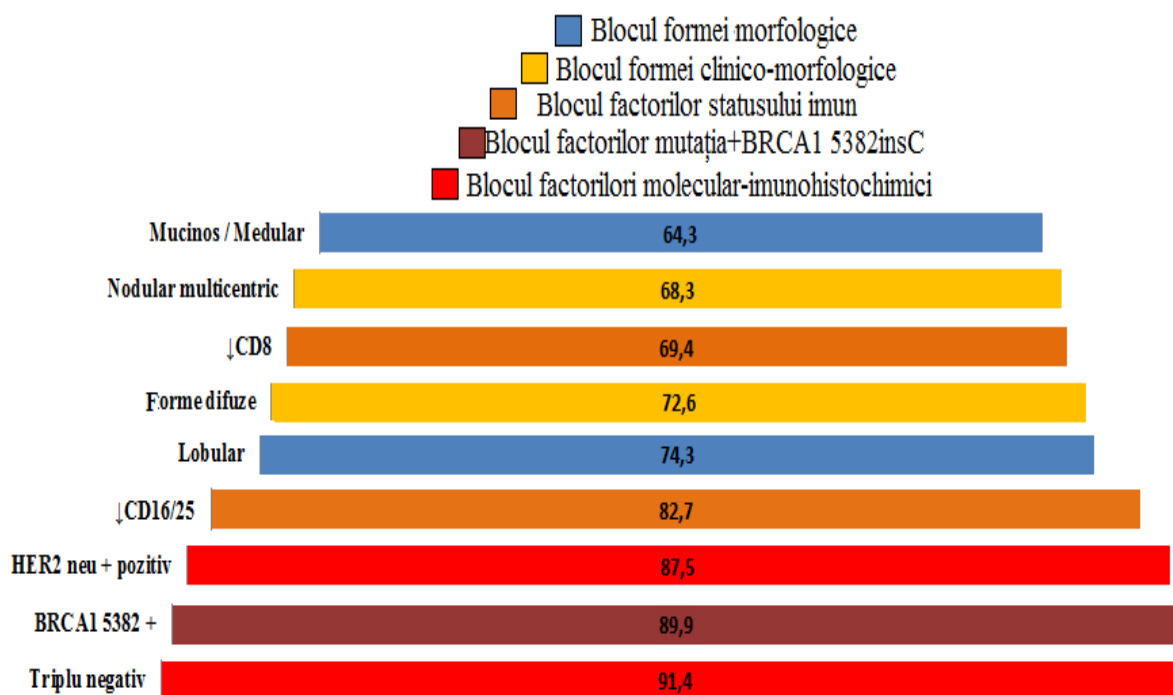


Fig. 4.16 Ierarhizarea factorilor de risc în evoluția CGM la pacientele cu DZ tip2

4.7 Aspecte de tratament al pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2

Elementele ce abordează aspectele tratamentului specific al pacientelor cu DZ tip 2, inclusiv al celui chirurgical, prezintă unele particularități ce țin atât de evoluția diabetului, cât și de particularitățile de cicatrizare a plăgilor postoperatorii: patologia de bază inițiază trecerea diabetului zaharat latent în diabet zaharat manifest, cicatrizarea plăgii chirurgicale pe fondalul DZ se poate agrava constant și se pot dezvolta complicații septico-purulente.

Toate problemele enunțate impun realizarea unui complex de măsuri, privind diferite procedee diagnostice și curative ce țin de pregătirea de către actul chirurgical, de selectarea optimă a volumului tratamentului chirurgical și de efectuarea anesteziei în cadrul intervențiilor chirurgicale la acest contingent de pacienți.

Metode de tratament aplicate pacientelor lotului de studiu

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, patologiiile 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 decizivi de risc (tabelul 4.13).

Tabelul 4.13 Metodele de tratament administrate pacientelor cu CGM și DZ tip 2

Lotul pacientelor	Metodele de tratament neoadjuvant			
	PCHT	RT	PCHT+RT	Tratament 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 pacienți nondiabetice - 69,06% și doar 51,40% pacienți care sufereau și de diabet zaharat ($p < 0,01$), 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 polichimeoterapic și radioterapic preoperator s-a efectuat aproximativ la același număr de pacienți din ambele loturi - 7,47% și, respectiv, 5,03%.

Metoda chirurgicală, ca prima etapă de tratament specific, a fost utilizată semnificativ mai frecvent la pacienții diabetici (33,51%), față de pacienții numai cu cancer mamar (20,86%), ($p < 0,05$). Este necesar de menționat, că diferența de 13 % dintre loturi a fost cauzată de prezența diabetului zaharat și a complicațiilor ireversibile ale acestuia.

Tratamentul chirurgical rămâne a fi metoda de bază în conduita curativă a cancerului mamar. Este cunoscut faptul, că pacienții cu diabet zaharat tip 2 prezintă deficiențe în toate domeniile chirurgiei, inclusiv în chirurgia glandei mamare, deoarece evoluția patologiei chirurgicale pe fondalul diabetului zaharat se agravează constant, decompensează funcțiile somatice cu predispunerea către dezvoltarea complicațiilor septico-purulente, limforee prolongată, vitalizarea precară a plăgilor postoperatorii cu creșterea duratei de spitalizare și dezavantaj economic considerabil în majoritatea absolută a cazurilor.

Totalitatea particularităților sus-menționate frecvent condiționează minimalizarea volumului operator sau chiar refuzul tratamentului chirurgical al pacienților cu cancer mamar și diabet zaharat.

Pentru tratamentul cancerului glandei mamare se utilizează următoarele intervenții chirurgicale: mastectomii radicale sau paliative de diferite tipuri, operații organomenajante cu limfadenectomie locoregională (evidarea ganglionilor limfatici axilari nivelul I-III), rezecții sectorale simple. În funcție de momentul operator: intervenții programate și intervenții efectuate de urgență sau urgență amânată (ultimile fiind efectuate conform indicațiilor vitale, în cazul hemoragiilor active și/sau distrucției tumorale).

Toate pacienții incluse în studiu au beneficiat de tratament chirurgical în volum radical sau paliativ. Pacienții 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 (rezecție sectorală largă, cu evidare locoregională a gll) au suportat mai multe pacienți 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 pacienții fără diabet.

Majoritatea pacienților din ambele loturi (69,16 % și 76,98% cazuri) au suportat mastectomii radicale tip Madden, cu diferență semnificativă pentru lotul II (tabelul 4.14).

Tabelul 4.14 Repartizarea pacienților în dependență de volumul tratamentului chirurgical

Lotul	rezeecția sectorală simplă	operație organomenajanta	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 paciențele cu cancer mamar și diabet zaharat, condiționat de riscul anestetico-chirurgical major (figura 4.17)

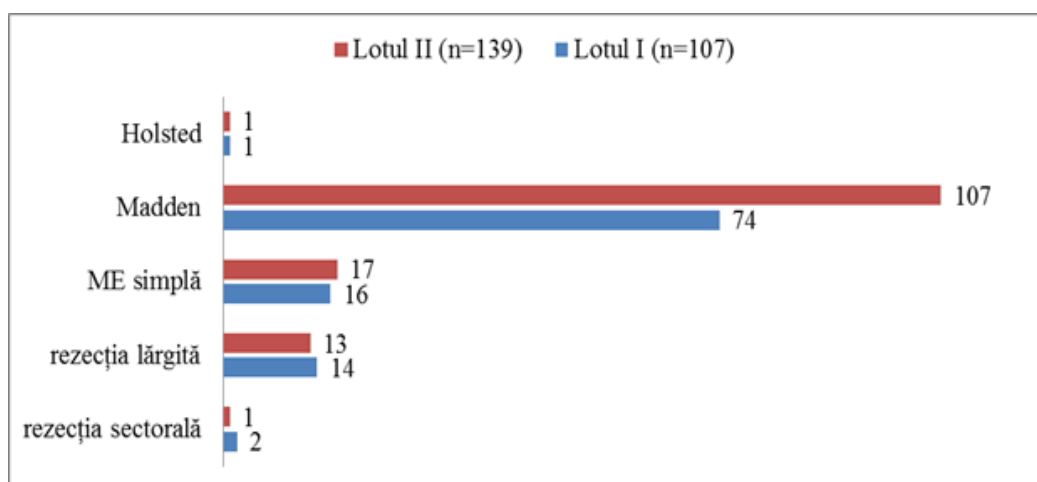


Fig.4.17 Repartizarea pacienților conform volumului tratamentului chirurgical (valorile absolute)

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 paciențele 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 paciențele lotului de studiu

Este cunoscut faptul, că limfa circulă prin vasele limfatice, precum și în spațiile intercelulare, realizând schimbul de substanțe între sânge și țesuturi și are drept sarcină transportul lipidelor și al moleculelor liposolubile în sânge. Limfa conține hormoni, proteine, grăsimi, săruri minerale, glucoză, compoziția sa se apropie de cea a plasmei, din care s-a format. Componenta calitativă și cantitativă a limfei la paciențele cu CGM influențează starea generală a organismului, regenerarea plăgii postoperatorii, și chiar generalizarea prin cale limfogenă a procesului malign.

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

- Tratament cu insulină (17 paciente);
- Tratament cu metformină (17 paciente);
- Lipsa tratamentului medicamentos specific (17 paciente);

Grupurile au fost omogenizate conform răspândirii proceselor maligne (st. II B) și volumului intervențiilor chirurgicale. S-a apreciat nivelul glicemiei în serul sangvin și conținutul limfatic al plăgii la a 7- 10 zi postoperator. (tabelul 4.15).

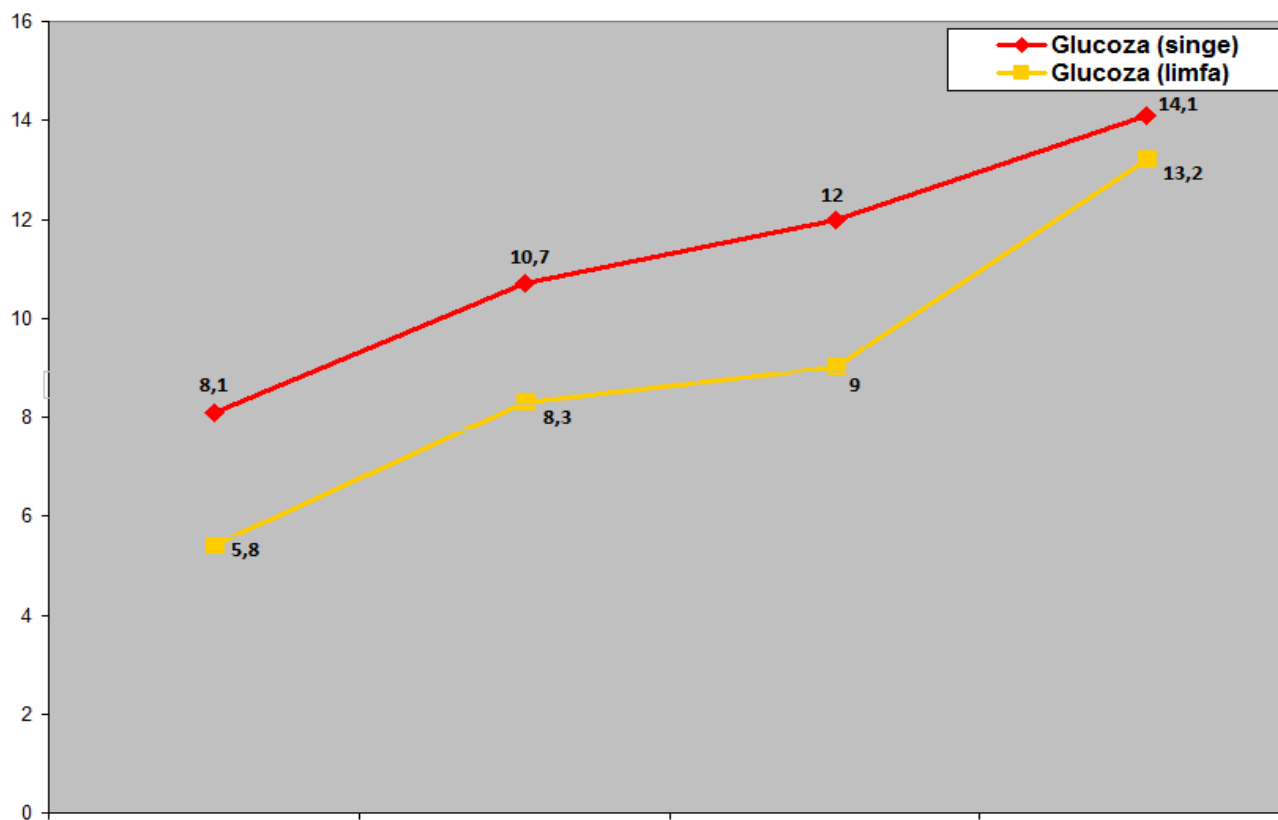
Paciențele cu CGM și DZ tip 2 au prezentat indici majorați ai nivelului glucozei atât în plasma sangvină , cât și în limfa din plăgile postmastectomice - $9,8 \pm 0,02$ și $9,6 \pm 0,07$ mmol/l, iar cele nondiabetice au avut valori în limitele normei - $5,8 \pm 0,01$ și $6,0 \pm 0,04$ mmol/l ($p_{I-II} < 0,01$).

Pâna nu de mult, cu scopul normalizării nivelului de glicemie la paciențele cu DZ tip 2 necomplicat în perioada pre-și 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% și cel al hemoglobinei glicozate - cu 1,5%.

Tabelul 4.15 Nivelul glicemiei în plasma sanvină și limfă la pacientele incluse în studiu

Lotul pacientelor	Nivelul glucozei (mmol/l)	
	Plasmă	Limfă
I.Pacientele cu CGM și DZ (n-51)	9,8±0,02	9,6±0,07
1.Tratament cu insulină (n-17)	8,5±0,04	9,0±0,02
2.Tratament cu metformină(n-17)	7,6±0,04	7,7±0,05
3. Fără tratament (n-17)	10,2±0,03	13,2±0,03
II.Pacientele cu CGM fără DZ (n-31)	5,8±0,01	6,0±0,04
Valoarea indicelui p	$p_{I-II} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,01$ $p_{1-2} < 0,05$	$p_{I-II} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,01$ $p_{1-2} > 0,05$

Dacă analizăm nivelul de glicemie al pacientelor cu diabet zaharat în dependență de tipul de medicație hipoglicemică, atunci cele tratate cu metformină au prezentat cifre în jurul valorilor normale - 7,6±0,04 mmol/l și 7,7±0,05 mmol/l, iar cele tratate cu insulină au prezentat valori puțin mai înalte - 8,5±0,04 mmol/l și 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 și regim dietetic) au prezentat indici glicemici mai înalți - 10,2±0,03 mmol/l și 13,2±0,03 mmol/l ($p_{1-3} < 0,05$ și $p_{2-3} < 0,01$). Așadar, putem constata, că la pacientele investigate nivelul de glicemie în plasma sangvină e direct proporțional cu cel al glucozei din limfa plăgilor postoperatorii (figura 4.18)



Dinamica valorilor glucozei la pacientele din grupul cu CGM și diabet zaharat tip II
Fig. 4.18 Corelarea nivelului glicemiei în plasma sangvină și limfă.

Limforeia abundentă este o problemă comună pentru toate pacientele cu cancer mamar, tratate chirurgical prin pierderea substanțelor biologice ale organismului, cicatrizarea precară a plagilor, perioada postoperatorie îndelungată și amânarea tratamentului specific. Am considerat necesar de a studia durata și cantitatea limfei în perioada postoperatorie la pacientele investigate. În așa mod, pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 au prezentat o diferență semnificativ veridică în cantitatea sumară a limfei pierdute în perioada postoperatorie, față de pacientele fără diabet ($2553,8 \pm 53,6$ ml vs $2147,1 \pm 53,2$ ml), ($p < 0,05$).

La pacientele cu CGM și DZ tip 2 tratate în perioada perioperatorie cu insulină în doze uzuale (preoperator timp de 1 - 5 zile și postoperator 10 - 14 zile) pierderea sumară a limfei după intervențiile chirurgicale timp de 25 ± 5 zile a alcătuit $2618,9 \pm 55$ ml. Pacientele cu CGM și DZ tip 2, tratate în perioada perioperatorie cu clorhidrat de metformină în doze 1,5 - 2,0 g nictemeral au prezentat cantitatea sumară a limforeii în volum de $2312,4 \pm 53,8$ ml (în mediu $22 \pm 1,5$ postoperator) ce e comparabil cu rezultatele pacientelor fără DZ, care au prezentat cantitatea sumară de $2147,1 \pm 53,2$ ml de limfă timp de $19 \pm 1,2$ zile (tabelul 4.16).

Tabelul 4.16 Durata și cantitatea sumară a limforeii la paciențele cu CGM și DZ tip 2

Lotul pacienților	Cantitatea limfei	Durata limforeii (zile)
I.Paciențele cu CGM și DZ (n-51)	2553,8±53,6	25±2,5
1.Tratament cu insulină (n-17)	2618,9±55,0	25±5,0
2.Tratament cu metformină(n-17)	2312,4±53,8	22±1,5
3.Fără tratament (n-17)	2729,8±55,6	28±5,7
II.Paciențele cu CGM fără DZ (n-31)	2147,1±53,2	19±1,2
Valoarea indicelui p	$pI-II < 0,01$ $p1-3 < 0,05$ $p2-3 < 0,01$ $p1-2 < 0,05$	$pI-II < 0,01$ $p1-3 < 0,01$ $p2-3 < 0,01$ $p1-2 < 0,05$

Paciențele cu CGM și DZ tip 2 fără tratament medicamentos antidiabetic (dietoterapie, fitopreparate etc.) au pierdut în $28 \pm 5,7$ zile în total $2729 \pm 55,6$ 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.

Paciențele cu CGM și DZ tip 2 tratate cu metformină au prezentat o micșorare considerabilă a cantității sumare a limfei și a duratei de spitalizare (de la $28 \pm 5,7$ la $22 \pm 1,5$ zile/pat postoperator) cu un debut intempestiv al tratamentului adjuvant cu beneficii economice considerabile.

Reprezentarea grafică a duratei limforeii și cantitatea sumară a limfei este reprezentată în figura 4.19

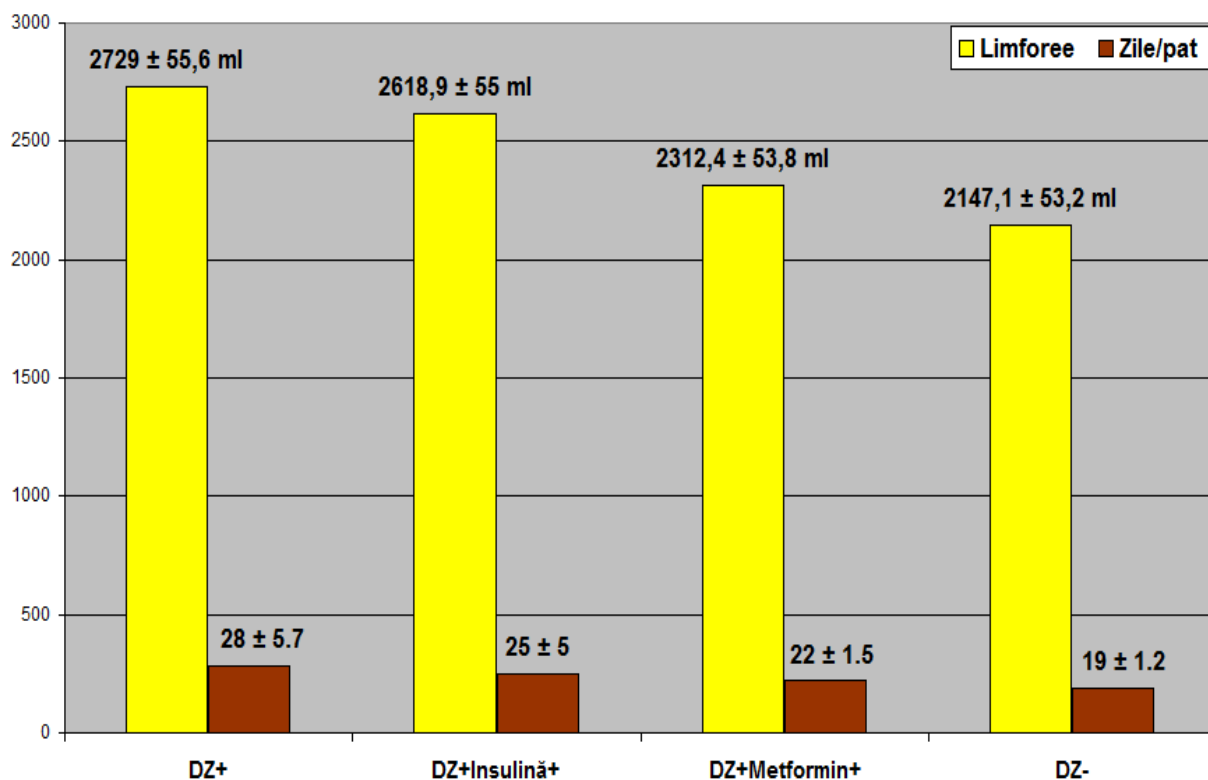


Figura 4.19 Durata limforeei și cantitatea sumară a limfei la pacientele cu CGM și DZ tip2

Tratamentului chirurgical al pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 rămâne a fi o problemă constantă, care prezintă o serie de particularități ce pot complica 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. (figura 4.20)

ALGORITMUL DE SELECTARE A VOLUMULUI OPTIM CHIRURGICAL

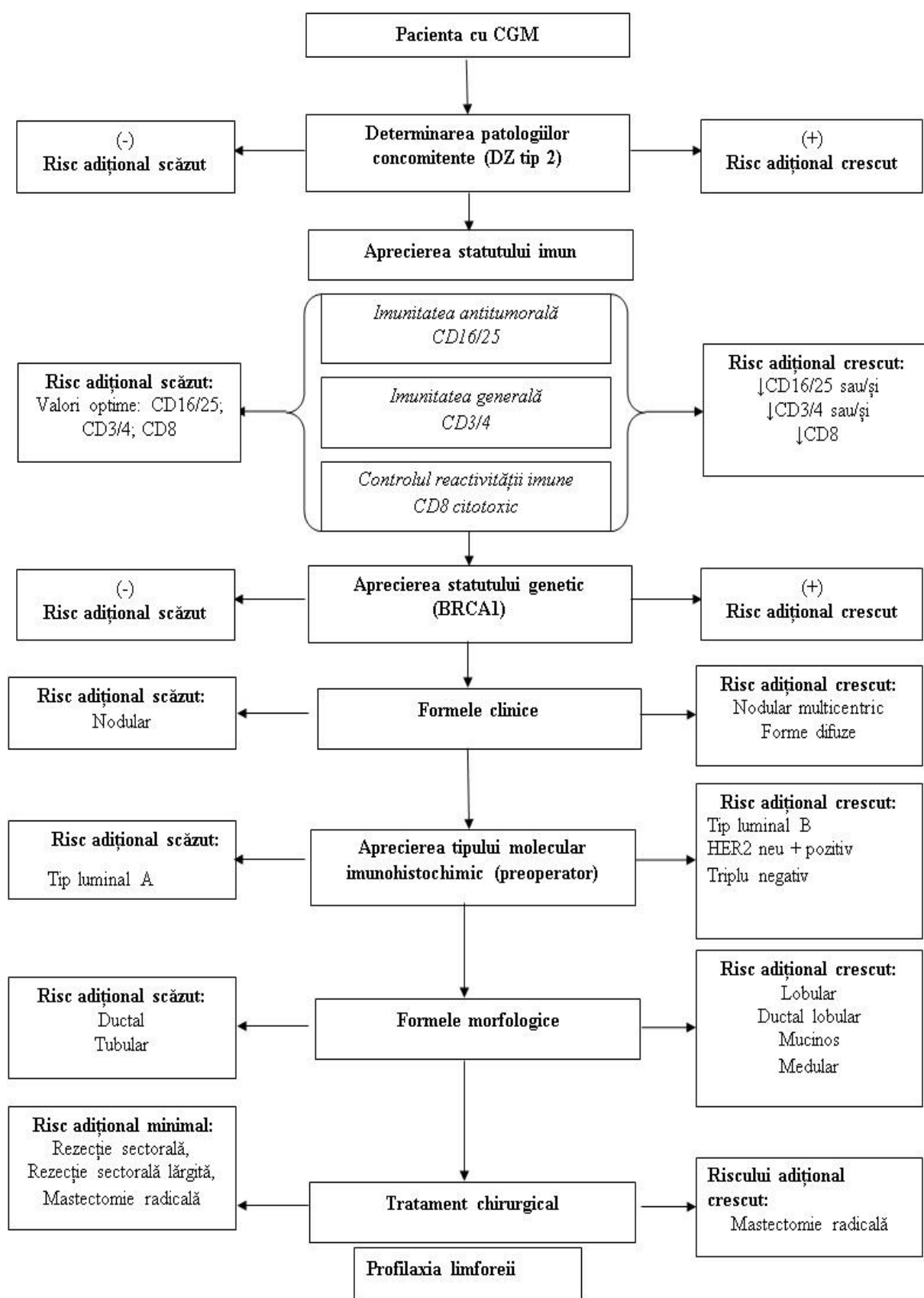


Figura 4.20

Algoritm de selectare a volumului optim chirurgical

Caz clinic 1.



Figura 4.21 Pacienta M, 59 de ani cu diagnosticul stabilit Cancer mamar sinistra T4N1Mo st III (p T3N3Mo)

Pacienta M., 59 ani cu diagnosticul la internare

"Cancer al glandei mamare sinistra T4N1Mo st. III B. Diabet zaharat tip 2 compensat. Cardiopatie ischemică, Insuficiență cardiacă 2 NYHA, hipertensiune arterială gr.II, Obezitate., maladie varicoasă a membrilor inferioare. (fig 4.21)

Anamneza morbi. Se consideră bolnavă de 8 luni, când a observat apariția unei formațiuni de volum în glanda mamară stângă, practic indoloră, cu semne cutanate pozitive, progresie aparent lentă, tratament desinestător nu a primit. Diagnosticul de diabet zaharat a fost stabilit cu 5 ani anterior, fără tratament specific. Dietoterapie. Fitoterapie

Anamneza ginecologică. Menarha-la 13 ani, regulate, nașteri – 3 , avorturi medicale - 3, avorturi spontane-2. Menopauza – de la 53 ani.

Anamneza eredocolaterală. Patologie oncologică la rude de gradul 1-2 –nu cunoaște. Mama, mătușa (sora mamei) – au suferit de diabet zaharat tip 2 mai mult de 15 ani.

Status localis. Glandele mamare – asimetrice, glanda mamară stângă-deformată în cadranul lateral superior, unde se palpează o formațiune de volum cu diametru 4,0*4,0*5,0 cm, cu implicarea tegumentelor supraiacente. Formațiunea este dură, ușor sensibilă la palpare, contur neregulat, puțin mobilă, semnele cutanate-pozitive.

Diagnosticul de carcinom mamar a fost stabilit clinic, paraclinc (USG, mamografic, figura 4.22) și confirmat citologic prin puncție-biopsie cu ac fin. Diagnostic de diabet zaharat confirmat de endocrinolog, la evidență.

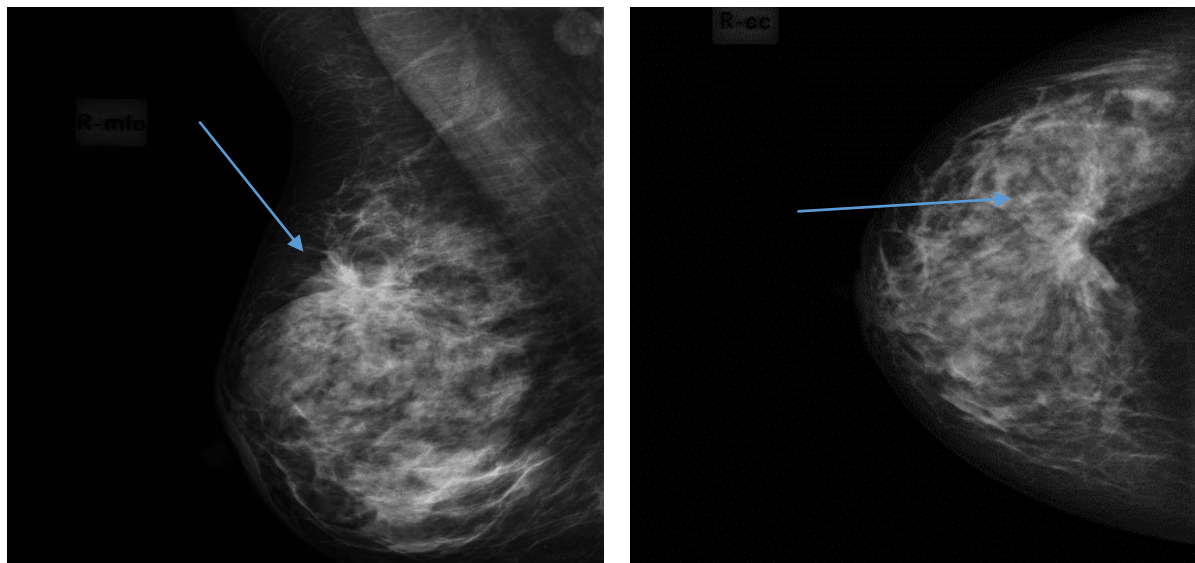


Figura 4.22 Diagnosticul mamografic, formațiune de volum BIRADS5

Pacienta a fost consultată de chimeoterapeut, s-a recomandat efectuarea tratamentului polichimeoterapic neoadjuvant, 3-4 cicluri schema CAF 2. După tratamentul chimeoterapic, se denotă o regresie parțială a tumorii, efect clinic-40-50%, pacienta revine pentru continuarea tratamentului chirurgical prin Mastectomie radicală tip Madden cu limfadenectomia locoregională.

Diagnosticul histopatologic

În cadranul lateral superior se determină un tumor de 4,0* 3,0* 3,5 cm cu concreștere în piele .Pe secțiunile examinate se pune în evidență *parenchim mamar ce este sediul unei proliferări celulare invazive de tip* carcinom lobular invaziv G3 cu arii de necroză și infiltrație limfoidă, cu creștere perineurală, P I, Fon-FAM neoproliferativă, Metastaze de carcinom în toți ggll axilari(8 din 14), în ggll subclaviculari(4din 8) și aparte. (figura 4.22)

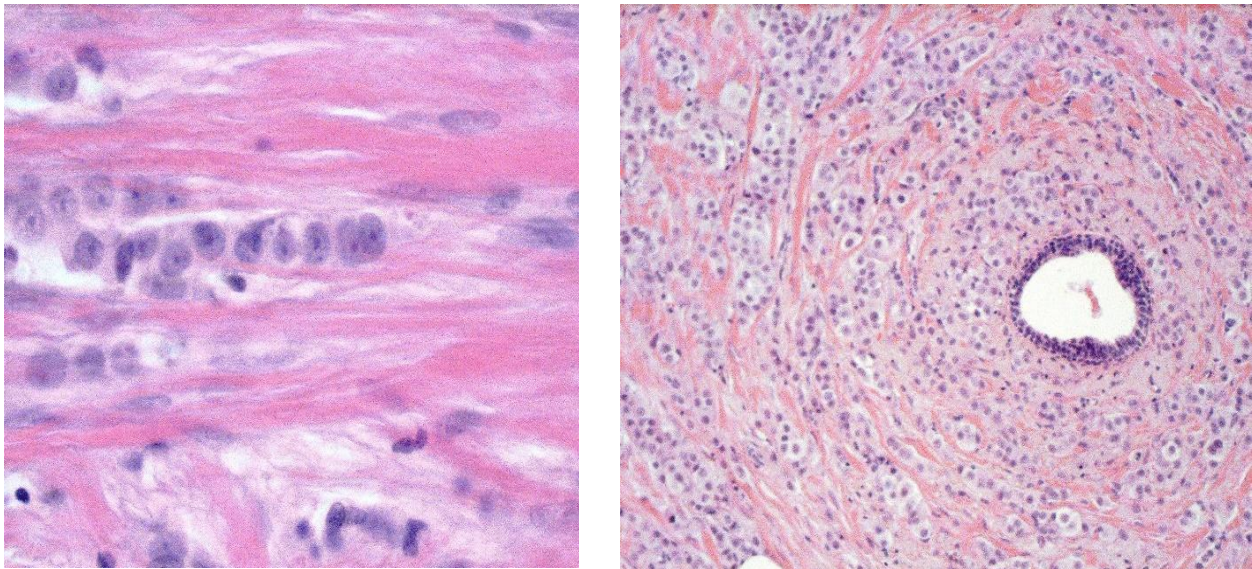


Fig. 4.22 Carcinom lobular invaziv la pacientă cu CGM asociat DZ
(colorarea H/E, 200 mcr $\times$ 10; 40)

Diagnosticul imunohistochimic - carcinom triplu negativ IHC Er-, Pr -, Her2- 3+,CK 5/6 negativ, Ki 67 30% (fig. 4.23)

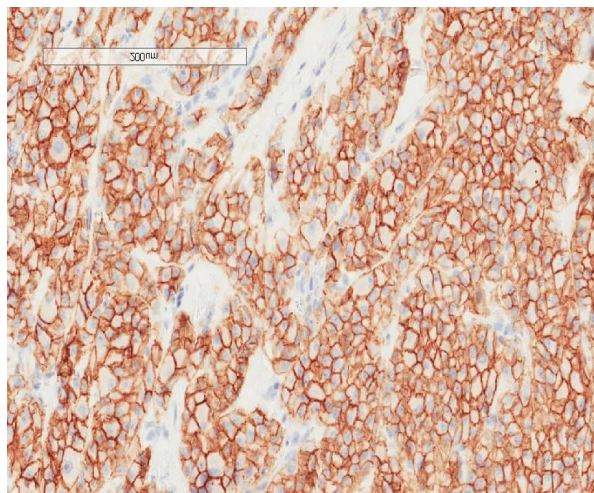


Fig. 4.23 Expresia markerului imunohistochimic HER2/neu – grad înalt de expresie 3+(X100,)DAB;

Perioada postoperatorie a evoluat fără particularități. În perioada postoperatorie – pacienta a primit tratament cu Metfogama 1000 $\times$ 2 ori, per os. Normoglicemie. Plaga -cicatrizată per primam. Durata limforeei- 16 zile postoperator. Este externată pentru continuarea tratamentului specific-chimio- și radioterapic.

4.8. Concluzii la capitolul 4

1. Studiul efectuat confirmă existența diferitor particularități clinice, morfopatologice și imunohistochimice ale pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2.
2. Evaluând vârsta medie a pacientelor investigate, am constatat următoarele: vârsta medie a pacientelor cu CGM și DZ tip 2 este mai mare, decât a pacientelor fără DZ ($59,0 \pm 0,76$ ani și $56,17 \pm 0,89$ ani, respectiv). Analiza corelațională între depistarea CGM și faza biologică a organismului a demonstrat, că în perioada reproductivă se aflau doar 3,74% paciente cu CGM și DZ tip 2 și de 3 ori mai frecvent - 10,79% - paciente cu CGM fără DZ ($p < 0,05$). Putem constata, că majoritatea pacientelor cu diabet zaharat sunt afectate de cancer mamar în perioada menopauzală (57,01% vs 29,5%), ($p < 0,01$) și postmenopauzală ($p < 0,05$) ce s-ar putea explica prin acțiunea tuturor alterațiilor induse de metabolismul modificat pe toată durata de existență a diabetului.
3. În baza rezultatelor obținute putem constata, că particularitățile morfologice ale tumorilor maligne în CGM și DZ se caracterizează prin frecvență înaltă a formelor mai agresive din punct de vedere a evoluției proceselor (carcinomul lobular, asocierea carcinom ductal-carcinom lobular, mucinos), ce ar impune o tactică mai agresivă de tratament.
4. Pacientele cu CGM și DZ prezintă mai frecvent fenotipuri imunohistochimice potențial mai nefavorabile și rezistente la scheme uzuale de tratament, inclusiv hormonoterapie (subtipul triplu negativ - 21,49% vs 11,51%, subtipul HER2/ neu pozitiv - 25,23% vs 16,54%). Tipul luminal A, cu evoluție mai favorabilă, prezintă doar 42,05% paciente cu DZ, față de 56,83% - fără DZ tip 2. Se cere de menționat faptul, că formele clinice, gradul de răspândire, formele morfologice și profilul imunohistochimic al tumorilor au corelat cu prezența mutației în gena BRCA1.
5. În baza calculării factoriale prin F-ratio a ponderii factorilor de risc prezenți la pacientele incluse în studiu, am elaborat algoritmul factorial de reprezentare analizei predictive a prognosticului evolutiv al cancerului mamar la pacientele cu DZ tip 2 cu stabilirea volumului optim al intervenției chirurgicale

SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE

Mentținerea sănătății populației într-o stare satisfăcătoare este o condiție obligatorie pentru dezvoltarea durabilă a oricărei națiuni. Prin prisma politicilor și strategiilor guvernamentale, sănătatea constituie unul dintre cele mai vizate elemente, datorită imenselor sale implicări individuale, sociale și demografice [168]. CGM este una dintre cele mai importante preocupări în populația feminină din întreaga lume, fiind cel mai frecvent tip de cancer în rândul femeilor din țările dezvoltate, afectând una din fiecare a opta femeie (13%). Incidența cumulativă în Europa de Vest și SUA este aproximativ de 3,7% la 55 de ani, 5,0% - la 65 de ani, și 7,7% - la 75 de ani, fiind în continuă creștere [29]. În 2016, incidența CGM a prezentat peste un milion de cazuri la nivel mondial, iar în fiecare an mai mult de 400.000 de femei decedează din cauza acestei maladii [46]. În Republica Moldova CGM ocupă primul loc în structura morbidității prin tumori maligne la femei. Incidența acestei localizări crește din an în an, constituind în anul 2015 54,9 ‰ sau 10,7 % [1]. Vârsta medie a pacienților de CGM în Republica Moldova este de 57,7 ani. [2].

Pe de altă parte, în ultimele decenii s-a remarcat o creștere importantă a incidenței DZ, această tendință prezentând legități constante și anume: prevalența netă a DZ tip 2 (90-95%) față de DZ tip 1 (5-10 %), consolidarea pozițiilor DZ tip 2 în grupul pacienților de vârstă pre – și postmenopauzală, ”întinerirea” considerabilă a patologiei. Epidemia de DZ este stimulată de majorarea paralela a ”presiunii glucidice”- *glycemic load* (ce reprezintă produsul indicelui glicemic al alimentelor și cantitatea glucidelor din produsele alimentare), cât și de creșterea considerabilă a numărului de persoane supraponderale. În prezent DZ tip 2 afectează mai mult de 9% din populația adultă din țările dezvoltate ale lumii [23, 49]. Situația este similară și în Republica Moldova, unde către anul 2015 au fost înregistrați 59,6 mii pacienți cu DZ, dintre care 90% îi revin DZ tip 2 și numai 10 % - diabetului zaharat tip 1. Se estimează ca cifra reală va atinge 160 de mii de cazuri, cu o tendință constantă de creștere [2, 153].

Ca o consecință firească, numărul pacienților cu CGM asociat cu DZ tip 2 înregistrează o ascensiune vădită. Actualmente există multiple studii care semnalează asocierea DZ cu un risc elevat de CGM [153, 162, 163]. Una dintre posibilele explicații ale acestei asocieri poate fi faptul, că ambele afecțiuni prezintă factori comuni de risc. Posibila legătură dintre hiperglicemie, DZ și CGM a fost pentru prima dată suspectată în urmă cu mai mult de un secol, hiperglicemia fiind raportată la pacienții cu cancer încă în 1885. Începând cu anul 1950 (The databases, MEDLINE) s-a raportat faptul, că paciențele cu CGM au o incidență mai mare a diabetului, decât paciențele sănătoase. Johnson JA, Bowker SL et al. (2011) susțin că DZ și CGM au o prevalență mai mare în țările dezvoltate, unde predomină un stil de viață sedentar, creșterea continuă a stresului și un aport alimentar crescut de grăsimi saturate și glucide rafinate [100, 101].

Datele literaturii de specialitate demonstrează cert rolul primordial al hormonilor steroizi ovarieni și durata acțiunii lor proliferative (de la debutul menarhei până în perioada de menopauză) asupra epitelului glandei mamare în geneza cancerului mamar. Menarhele precoce -până la 12 ani - cresc riscul apariției CGM. La etapa stabilizării funcției reproductive și a debutului funcționării ciclice a gonadelor majoritatea ciclurilor menstruale poartă un caracter anovulator, ciclul ovulator se stabilește către vârsta de 14 ani [43].

Menopauza tardivă - după 55 ani - dublează riscul dezvoltării CGM, comparativ cu menopauza precoce- până la 45 ani. În așa mod, devierile fiziologice ale nivelului concentrației de estrogen-progesteron contribuie la un risc sporit în declanșarea CGM [43, 59].

Aceste subiecte au fost studiate și de noi și rezultatele obținute confirmă relatările autorilor sus-menționați. Analizând particularitățile funcției reproductive la pacientele din loturile de studiu am obținut următoarele date: menarhe până la 12 ani s-a stabilit la 35,2% paciente din lotul I și 25,3% paciente - din lotul II. Pentru aceasta vîrstă de menarhe s-a stabilit diferență veridică între pacientele loturilor de studiu; menarhe 12-14 ani au avut 60,1% paciente din lotul I și 53,2% pacientele - din lotul II. Menarhe după 14 ani au avut 4,7 % paciente din lotul I și 21,5% - din lotul II. Deci, pentru pacientele investigate vârsta menarhei a jucat un rol important în dezvoltarea CGM.

Analiza corelațională între depistarea CGM în raport cu perioada biologică a organismului a demonstrat, că majoritatea pacientelor se aflau în perioada menopauzală (57,01% vs 29,5%), ce poate fi explicat prin perturbările hormonale specifice perioadei biologice respective și totalitatea alterațiilor induse de metabolismul modificat de diabetul zaharat.

Afecțiunile hormono-metabolice, așa cum este obezitatea, hipertensiunea arterială, care sunt însoțite de tulburări ale funcției suprarenalelor, reprezintă verigile patogenetice de bază atât în declanșarea cancerului glandei mamare, cât și a diabetului zaharat [30, 33, 71].

Datele investigațiilor proprii confirmă rezultatul cercetărilor științifice sus-menționate și relatează că majoritatea absolută a pacientelor cu CGM și DZ 2 au prezentat IMC peste valorile optime: IMC >30,0 (obezitate) au prezentat 62 paciente (57,94%) din lotul I și doar 24 paciente (17,27%) - din lotul II, IMC în limitele 25,0-29,9 (suprapondere) au avut 34 paciente din lotul I (31,78%) vs 44 (31,65%) - din lotul II. IMC în limitele 18,5-24,9 (greutate normală) s-a înregistrat doar la 11 paciente (10,28%) din lotul I vs 69 (49,64%) - din lotul II, IMC <18,5 nu a fost nici o pacientă din lotul I și numai la 2 paciente (1,44%) - din lotul II. Așa dar, majoritatea pacientelor cu CGM și DZ (89,72%) au prezentat diferit grad de obezitate, față de pacientele cu CGM fără DZ (48,92%), ceea ce denotă că obezitatea joacă rolul unui mecanism patogenetic primordial în dezvoltarea atât al DZ tip II, cât și a CGM.

Se știe, că marea majoritate a cazurilor de cancer mamar sunt sporadice. Proporția fracțiunii ereditare a neoplasmelor mamare cu mutații genetice este de aproximativ 8-12% [21, 27, 108]. Istoricul familial pozitiv este prezent doar la 5% dintre bolnave dar, e necesar de remarcat, cazurile familiale ale

căror rude prezintă exclusiv tumori mamare nu constituie decât jumătate din totalul cazurilor familiale, cealaltă jumătate cuprinzând cazuri apărute în familii în care s-au înregistrat pe lângă cancerul mamar, tumori maligne ale altor organe: ovare, endometriu, colon, creier, țesuturi conjunctive, etc., [27, 172].

Gena BRCA1, de studierea căreia ne-am preocupat, este localizată la nivelul cromozomului 17q21, formată din 22 de exoni și codifică o proteină de 1863 de aminoacizi. Mutațiile genei BRCA1, ce conduc la erori în replicarea ADN-ului și proliferarea necontrolată a celulelor epiteliale, sunt răspunzătoare de aproximativ 40% din cazurile de cancer mamar ereditar și mai mult de 80% din cazurile de cancer mamar și ovarian ereditare [27].

Determinarea genei BRCA1 s-a efectuat la 108 paciente, dintre care la 64 cu CGM și DZ tip2 și 44 - cu CGM fără DZ. Loturile au fost divizate în grupuri în funcție de prezența mutației BRCA1 5382insC: lotul I –în grupul A - pacientele cu prezența mutației majore BRCA1 5382insC, grupul B - pacientele fără mutația respectivă, lotul II - în grupul C –pacientele cu prezența mutației majore BRCA1 5382insC și grupul D - cele fără această mutație.

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 diabet zaharat. Relatările noastre confirmă datele științifice ale savanților care au studiat determinismul genetic în cancerul mamar, care confirmă că fracțiunea ereditară a neoplasmelor mamare cu mutații genetice este de aproximativ 8-12% [21, 179].

Astfel, analiza factorială prin metoda ANOVA cu parametrizarea limitată prin σ a prezentat corelare dependentă pentru BRCA1 care s-a depistat în lotul pacientelor cu CGM și DZ tip 2, comparativ cu lotul celor fără DZ ($p=0,0043$). Acest fapt denotă existența particularităților genetice specifice pentru pacientele cu CGM și DZ tip 2.

În literatura de specialitate tot mai frecvent apar relatări despre starea sistemului imun la pacientele cu cancer mamar în asocieră cu DZ, caracterizată prin imunodeficiență secundară cu diferite grade de manifestare, cu o reducere a tuturor nivelurilor imunității antiinflamatorii. Dereglarea imunității afectează aproape toate părțile componente ale sistemului imun [55, 155].

Se apreciază și activitatea fagocitară joasă a neutrofilelor, scăderea producerii de anticorpi. Numărul absolut al celulelor-T, de regulă tinde să scadă, numărul celulelor T-supresoare este majorat, de asemenea, și activitatea lor este mărită considerabil, scade numărul de celule T-helper și activitatea lor funcțională. Se inhibă proliferarea celulelor stem și încetinesc procesele de diferențiere [155]. În așa mod, se observă o scădere a indicilor imunității umorale naturale și dobândite, la fel și a activității fagocitare a neutrofilelor [55].

Unul din cei mai accesibili și veridici indicatori ce caracterizează sistemul imun, este determinarea limfocitelor în sângele periferic. În materialul studiat de noi pentru caracteristica indicilor cantitativi și

funcționali ai subclaselor limfocitelor T am utilizat o metodă efectivă de identificare a celulelor prin determinarea imuno-fermentativă cu ajutorul anticorpilor monoclonali.

S-au efectuat un șir de cercetări a determinantelor celulare (CD), scopul principal fiind compararea acestor rezultate între loturile de pacienți și analiza corelării cu mutația genetică înaltpenetrantă BRCA1.

Investigațiile efectuate în acest domeniu ne-au permis să concludem, că paciențele loturilor studiate se caracterizează prin imunodepresie vădită atât antitumorală: CD16 (lotul I $14,3 \pm 0,72$ vs lotul II $21,2 \pm 0,56$) cât și generală, exprimată prin reducerea semnificativă a funcției helper CD4 (lotul I $27,4 \pm 1,8$ vs lotul II $35,7 \pm 0,15$) și a celulelor reglatoare a reacțiilor imune CD8 (lotul I $14,3 \pm 0,2$ vs lotul II $19,3 \pm 0,3$).

Prezența mutației majore 5382insC în gena BRCA 1 la pacienți cu CGM și DZ tip 2 a fost depistată de 2 ori mai frecvent, decât la cele fără DZ (21,87% vs 11,36 %). 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 ($r=0,99$). Așadar, totalitatea dereglărilor imune caracteristice DZ pot avea un rol declanșator în veriga imunopatogenetică, cu inducerea mutației la nivelul genei BRCA1 la paciențele cu cancer mamar.

Așa dar, putem concluziona, că mutațiile în gena BRCA1 condiționează o imunosupresie generală cu micșorarea reacției imune a organismului. Posibil, că această diferență înregistrată pentru T limfocitele CD8, este cauzată nu numai de influența antigenelor BRCA1, dar și de acțiunea costimulatoare a T limfocitelor CD4, asupra cărora DZ acționează în mod invers, decât asupra T limfocitelor CD8. Astfel, proliferarea programată a T limfocitelor CD4 în cadrul CGM indusă de către hiperglicemie și mutația genei BRCA1 va atenua creșterea și maturizarea limfocitelor T CD8, iar în cadrul CGM fără DZ tip 2, induce proliferarea T limfocitelor CD8 cu suprimarea, posibil secundară, a T limfocitelor CD4.

În cercetarea efectuată de noi rezultatele cadrează cu cercetările altor savanți în domeniu, care remarcă că pentru paciențele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat este caracteristică o imunodepresie vădită atât antitumorală, cât și generală [160].

Mulți cercetători științifici relatează despre o evoluție mai puțin agresivă a cancerului mamar la asocierea acestuia cu DZ tip 2. În pofida faptului că “rolul pozitiv” al DZ în CGM ar părea explicabil (s-ar presupune că asemenea formațiuni ar răspunde mai eficace la tratamentul hormonal), se constată că există mai mulți factori care ar controversa un asemenea concept [52]. În afară de aspectele hormonale și metabolice, se poate atribui și micșorarea reactivității imune, reducerea rezistenței antitumorale, alterarea manifestă a ADN-ului (atât nuclear, cât și mitocondrial), acțiunea asupra proceselor de angiogeneză și metastazare .

Alți autori ai literaturii contemporane au constatat, că răspândirea procesului malign al CGM la paciente cu DZ tip 2 față de omologii lor nondiabetici, estimează o interdependență directă cu un risc majorat de depistare a procesului oncologic în stadiu mai avansat al maladiei. Studiile sefectuate au conclud, că pacientele cu CGM și DZ tip 2 au fost diagnosticate mai frecvent în stadii avansate ale procesului, comparativ cu pacientele fără DZ [Fleming et al. și Srokowski et al., Van de Poll-Franse et al.].

Datele studiului nostru confirmă datele științifice ale autorilor sus- menționați și denotă, că forma nodulară unicentrică a fost depistată la 78,5% paciente din lotul I vs 88,49% - din lotul II; formă nodulară multicentrică la 9,35 % din lotul I vs 4,32% - din lotul II. Forme difuze ale maladiei (potențial mai agresive) au fost inregistrate la 10,28% și, respectiv, la 5,04%. Formele rare – la 1,87% din lotul I vs 2,16% - din lotul II.

În așa fel putem constata, că formele cu un potențial de evoluție mai agresivă, nodulare multicentrice și difuze ale cancerului mamar s-au depistat mai frecvent la pacientele cu CGM și DZ, vs paciente fără DZ, cu diferență statistic semnificativă ($<0,01$).

Analizând gradul de extindere loco-regională al procesului malign am obținut următoarea repartiție: afectarea ganglionilor limfatici axilari a fost stabilită la 54,21% paciente lotul I vs 53,24% - din lotul II. Afectarea ganglionilor limfatici axilari și subclaviculari s-a depistat la 24,3% paciente din lotul I vs 10,7% - din lotul II.

Evaluând 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. La pacientele din grupul B, fără mutație în gena BRCA 1, fiecare a treia pacientă (34,0%) nu a prezentat adenopatie axilară, la fiecare a doua pacientă (52,0%) au fost afectați doar ganglionii limfatici axilari și numai la 14,0% au fost afectați ganglionii limfatici axilari și subclaviculari.

Așadar, adenopatia axilară și subclaviculară e mai frecvent depistată la pacientele care suferă de CGM și de DZ cu diferență statistic semnificativă, față de pacientele numai cu cancer mamar.

În prezent, evoluția clinică a CGM se bazează pe factorii tradiționali predictivi și de prognostic precum: tabloul clinic, tipul morfopatologic și factorii biologici (expresia receptorilor hormonal și ai proteinei HER2/neu). Anume diversitatea tipurilor imunohistochimice ale tumorilor condiționează evoluția nefavorabilă a procesului malign cu diseminarea procesului local și general (în special în primii 5 ani), supraviețuire redusă și o rată de mortalitate relativ înaltă [29].

Examenul morfopatologic furnizează diagnosticul de certitudine, care include descrierea tipului morfologic al tumorii, gradul de diferențiere, gradul de patomorfoză, starea țesutului tumoral adiacent, starea ganglionilor limfatici regionali etc.

Analizând formele morfopatologice ale CGM în lotul pacienților incluse în studiu, am obținut următoarele date:

Carcinomul nespecific ductal a fost depistat cu frecvență înaltă în ambele loturi de studiu: la 57% pacienți în lotul I și 79,13% - în lotul II, cu preponderență semnificativă la paciențele fără diabet zaharat.

Carcinomul lobular s-a depistat de 2 ori mai frecvent - la 12,14% la paciențele din lotul I, față de 5,03% - din lotul II ($p < 0,01$). Formele mixte - asocierea carcinom ductal și lobular s-a depistat la fel de 2 ori mai frecvent - în 10,28% - în lotul I vs 4,31% - în lotul II ($p < 0,01$). Formele morfologice rare ale cancerului mamar: carcinomul medular, mucinos și tubular s-au depistat la fel mai frecvent la paciențele cu cancer mamar și diabet, față de semenii.

Patomorfoză pronunțată (gr. IV) în urma tratamentului administrat au prezentat mai frecvent paciențele care sufereau și de diabet (7,47%) și practic de 1,7 ori mai rar paciențele nondiabetice (4,31%) cu diferență statistică semnificativă.

Analiza comparativă corelațională dintre formele morfologice ale tumorilor la paciențele 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 paciențele investigate cu indicele $r = 0,76$ ($p < 0,05$).

Rezultatele obținute de noi în privința particularităților morfologice diferă de relațiile unor savanți în domeniu, care menționează că structura morfologică a tumorilor maligne la paciențele care suferă de diabet zaharat nu diferă față de cele fără diabet [98].

Examenul imunohistochimic relevă tipul molecular al cancerului mamar, care reprezintă caracteristicile biologice de importanță ale tumorilor maligne.

Cu scopul stabilirii particularităților biologice ale tumorilor, procedeu obligatoriu în individualizarea tratamentului, s-au apreciat RE, RP și proteina HER2/neu la paciențele lotului de studiu. La paciențele investigate în cadrul studiului am stabilit predominarea formelor imunohistochimice cu un grad de agresiune sporit la paciențele cu cancer mamar și diabet zaharat asociat (*HER2/neu + pozitiv* cu expresia negativă a RE și RP și RE- /RP-/Her2- triplu negativ), față de paciențele fără diabet zaharat, care au prezentat subtipuri moleculare cu un potențial mai puțin agresiv (RE+/RP+/Her2-).

Analiza corelațională dintre profilul imunohistochimic cu prezența mutației în gena BRCA1 denotă o corelație semnificativă - cu indicii de corelare $r = 0,79-0,82$ - la paciențele ambelor loturi ($p < 0,01$).

În baza rezultatelor obținute putem constata, că particularitățile morfologice ale tumorilor maligne în CGM și DZ se caracterizează prin frecvență înaltă a formelor mai agresive din punct de vedere a evoluției

proceselor (carcinomul lobular, asocierea carcinom ductal și lobular, mucinos), ce ar impune o tactică mai agresivă de tratament.

Pacientele cu CGM și DZ prezintă mai frecvent fenotipuri imunohistochimice potențial mai nefavorabile și rezistente la scheme uzuale de tratament, inclusiv hormonoterapie (subtipul triplu negativ - 21,49% vs 11,51%, subtipul HER2/ neu pozitiv - 25,23% vs 16,54%). Tipul luminal A, cu evoluție mai favorabilă, prezintă doar 42,05% paciente cu DZ, față de 56,83% - fără DZ tip 2. Se cere de menționat faptul, că formele clinice, gradul de răspândire, formele morfologice și profilul imunohistochimic al tumorilor au corelat cu prezența mutației în gena BRCA1.

În rezultatul investigațiilor complexe efectuate și expuse în capitolele precedente am determinat valoarea *factorilor decesivi de risc* în prognosticul evoluției cancerului mamar la pacientele cu diabet tip 2.

Analiza factorială prin F-ratio a ponderii factorilor de risc decisivi în prognosticul evoluției cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat a determinat importanța majoră a următorilor indici: varianta moleculară imunohistochimică a tumorilor maligne, prezența mutației în gena BRCA1 5382 insC, dereglările în statusul imunității antitumorale și varianta morfologică a tumorilor. Utilizând F-testul Fisher am reușit să ierarhizăm totalitatea indicilor cu importanța majoră în evoluția CGM la pacientele cu DZ tip 2. Am repartizat multitudinea factorilor de risc pe blocuri: blocul factoriilor molecular-imunohistochimici, prezenței mutației în gena BRCA1 5382 insC, statusului imunității antitumorale, variantei clinice și morfologice a tumorilor. Stabilirea factorilor decesivi de risc în evoluția cancerului glandei mamare la pacientele cu diabet zaharat tip 2 ne-a permis să selectăm criteriile de apreciere a volumului optim al intervenției chirurgicale.

Analizând repartiția cazurilor conform volumului chirurgical administrat am obținut următoarele date: pacientele lotului I au beneficiat de tratament chirurgical în volum minimizat prin rezecție sectorală în 2 cazuri (1,87 %) vs 1 caz (0,72%) – din lotul II, tratament organomenajant cu evidare locoregională în 14 cazuri în lotul I vs 13 cazuri (9,35%) - în lotul II, mastectomie simplă în 16 cazuri (14,95%) lotul I vs 17 cazuri (12,23%) - în lotul II. Majoritatea pacienților din ambele loturi au suportat mastectomii radicale tip Madden - 74 pacienți (69,16 %) din lotul I vs 107 cazuri (76,98%) - din lotul II. În așa fel putem constata o minimizare al tratamentului chirurgical la pacientele cu CGM și DZ tip 2, condiționat de riscul anestetico-chirurgical crescut la această categorie de bolnave.

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 (autori limforee). La pacientele cu CGM asociat cu DZ tip 2 limforeia prolongată în perioada postoperatorie frecvent condiționează dezvoltarea complicațiilor septică, 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.

Pacientele cu CGM și DZ tip 2 au prezentat indici majorați ai nivelului glucozei atât în plasma sangvină , cât și în limfa din plăgile postmastectomice - $9,8 \pm 0,02$ și $9,6 \pm 0,07$ mmol/l, iar cele cu CGM fără DZ au avut valori în limitele normei $5,8 \pm 0,01$ și $6,0 \pm 0,04$ mmol/l.

Pâna nu de mult, cu scopul normalizării nivelului de glicemie la pacientele cu DZ tip 2 necomplicat în perioada pre-și 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 20,0% și cel al hemoglobinei glicozate - cu 1,5%.

Dacă analizăm nivelul de glicemie al pacientelor cu diabet zaharat în dependență de tipul de medicație hipoglicemică, atunci cele tratate cu metformină au prezentat cifre în jurul valorilor normale - $7,6 \pm 0,04$ și $7,7 \pm 0,05$ mmol/l, iar cele tratate cu insulină au prezentat valori puțin mai înalte - $8,5 \pm 0,04$ și $9,0 \pm 0,02$ mmol/l. Pacientele cu DZ, care nu au primit tratament specific (sau au corijat valorile glicemiei prin fitoterapie și regim dietetic) au prezentat indici glicemici mai înalți - $10,2 \pm 0,03$ și $13,2 \pm 0,03$ mmol/l.

Așadar, am constatat, că la pacientele investigate nivelul de glicemie în plasma sangvină e direct proporțional cu cel al glucozei din limfa plăgilor postoperatorii.

Limforeia abundentă este o problemă comună pentru toate pacientele tratate chirurgical în legătura cu cancerul glandei mamare prin pierderea substanțelor biologice ale organismului, cicatrizarea precară a plagilor, perioada postoperatorie îndelungată și amânarea tratamentului specific. Am considerat necesar de a studia durata și cantitatea limfei în perioada postoperatorie la pacientele investigate.

În așa mod, pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 au prezentat o diferență semnificativ veridică în cantitatea sumară a limfei pierdute în perioada postoperatorie, față de pacientele fără diabet. La pacientele cu CGM și DZ tip 2, tratate în perioada perioperatorie cu *insulină în doze uzuale* (preoperator timp de 1-5 zile și postoperator 10-14 zile) pierderea sumară a limfei după intervențiile chirurgicale timp de 25 ± 5 zile a alcătuit $2618,9 \pm 55$ ml. Pacientele cu CGM și DZ tip 2, tratate în perioada perioperatorie cu *clorhidrat de metformină* în doze 1,5-2,0 g nictemeral au prezentat cantitatea sumară a limforeii în volum de $2312,4 \pm 53,8$ ml (în mediu $22 \pm 1,5$ postoperator), ce e comparabil cu rezultatele pacientelor fără DZ, care au prezentat cantitatea sumară de $2147,1 \pm 53,2$ ml de limfă timp de $19 \pm 1,2$ zile.

Pacientele cu CGM și DZ tip 2 *fără tratament medicamentos antidiabetic* (dietoterapie, fitopreparate etc.) au pierdut în $28 \pm 5,7$ zile în total $2729 \pm 55,6$ ml limfă. Eroarea standartă a calculelor pentru durata limforeii a fost cuprinsă în intervalul 2,03-2,4%, ce permite de a considera statistic semnificative datele obținute.

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 spitalizare (de la $28 \pm 5,7$ la $22 \pm 1,5$ zile/pat postoperator) cu un debut intempestiv al tratamentului adjuvant cu beneficii economice considerabile.

Deoarece tratamentul chirurgical al pacientelor cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2 rămâne a fi o problemă constantă, care prezintă o serie de particularități ce pot complica perioada perioperatorie ne-am pus un scop aparte de a selecta volumul optim al intervenției chirurgicale în fiecare caz în parte, ținând cont de particularitățile menționate frecvent în capitolele anterioare.

În baza calculării factoriale prin F-ratio a ponderii factorilor de risc în evoluția cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat am elaborat algoritmul factorial de reprezentare a tacticii de analiză predictivă a prognosticului evolutiv al neoplaziilor mamare la pacientele cu DZ tip 2 cu stabilirea volumului optim al intervenției chirurgicale.

CONCLUZII GENERALE

1. Pacientele cu CGM asociat cu DZ se caracterizează prin imunodepresie vădită antitumorală: CD16 (lotul I $14,3 \pm 0,72$ vs lotul II $21,2 \pm 0,56$) ($p < 0,01$), dar și generală, exprimată prin reducerea semnificativă a funcției helper CD4 (lotul I $27,4 \pm 1,8$ vs lotul II $35,7 \pm 0,15$) ($p < 0,01$) și a celulelor reglatoare a reacțiilor imune CD8 (lotul I $14,3 \pm 0,2$ vs lotul II $19,3 \pm 0,3$) ($p < 0,01$).
2. Prezența mutației majore 5382insC în gena BRCA 1 la paciente cu CGM asociat cu 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 acestora cu imunodeficiența celulară: 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 un rol declanșator în veriga imunopatogenetică în cancerul mamar cu inducerea mutației la nivelul genei BRCA1.
3. Pacientele cu CGM asociat cu DZ au prezentat unele particularități clinice în comparație cu cele nondiabetice: 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 înaltpenetrante 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, 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 – $6,54\%$ vs $2,88\%$, ($p < 0,01$). Pacientele cu diabet au prezentat patomorfoză mai pronunțată (gr. IV), față de cele nondiabetice – $7,47\%$ vs $4,31\%$ ($p < 0,01$). Indicele corelativ cu gena BRCA1 5382insC prezintă valori înalte 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 – $11,51\%$ vs $16,54\%$. 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. Problema științifică soluționată constă în selectarea factorilor primordialii 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. În baza factorilor 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/și reconstructiv.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Ținând cont de faptul, că diabetul zaharat tip 2 prezintă un potențial factor de risc în dezvoltarea cancerului mamar, pacienților cu diabet zaharat se recomandă de a spori vigilența oncologică prin efectuarea regulată a investigațiilor complexe cu includerea tuturor metodelor specifice de diagnostic (clinică, imagistică, genetică, imunologică) pentru depistarea precoce a cancerului.
2. Reșind 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 pacienților cu CGM.
3. Pacienților cu CGM și Dz tip 2 se recomandă aprecierea subtipurilor imunohistochemice 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.
4. 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 imunohistochemice triplu negative și HER 2 /neu pozitive, prezintă o evoluție nefavorabilă a procesului neoplazic cu prognostic rezervat și necesită din start personalizarea tratamentului specific și dispensarizarea minuțioasă a acestora.
5. Recomandăm de a selecta volumul optim al intervențiilor chirurgicale în baza factorilor decisivi de risc stabiliți (imuno-genetici, clinico-morfologici și imunohistochemici), conform criteriilor elaborate în algoritm. Pacienților cu criterii de prognostic nefavorabil se va recomanda imperativ efectuarea mastectomiilor radicale în defavoarea tratamentului organomenajant sau reconstructiv.
6. Cu scopul profilaxiei limforeii abundente și prolongate la pacientele cu CGM și DZ tip 2 compensat și subcompensat, pentru prevenirea tergiversării tratamentului adjuvant și micșorarea duratei de spitalizare, se recomandă de a utiliza tratamentul cu clorhidrat de metformină în perioada postoperatorie.

BIBLIOGRAFIE

1. Biroul Național de Statistică, Ocrotirea sănătății, Morbiditatea populației la 100 000 locuitori pe Raioane/Regiuni, Clase de boli, Ani și Indicatori, actualizat în decembrie 2016
2. Cancer Registru național, IMSP Institutul Oncologic, accesat 21 noiembrie 2016.
3. Cernat V., Gh.Țîbîrnă, M. Gabunia Evaluarea managementului serviciului oncologic din Republica Moldova 3-a Congresul național de oncologie, cons. jubil. de 50 de ani de la fondarea Inst. Oncologic : culegere de art., 21-23 oct. 2010. – Chișinău, 2010. – P. 1-5
4. Ghidirim N și al. Investigațiile clinico-morfologice și imunohistochimice ale bolnavelor de cancer mamar faza reproductivă în perioada preoperatorie. Arta Medica nr.3 (56), 2015p.157-158
5. Jovmir, V și al. 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 Științe a Moldovei. Științe Medicale № 4 (40) 2013. ISSN 1857-0011. P.. 123-126.
6. Machidon Vitalie și al. Recurența cancerului mamar în stadiul II. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale .3(48)/2015. P.195-197
7. Mereuță Ion, Gațcan Șt. „Mastopatiile difuze”. Chișinău, 2012, p..151
8. Protocolul Clinic Național PCN-102 Cancerul Glandei Mamare, 2012, revăzut, 2015
9. Protocolul Clinic Național PCN-33 Diabet Zaharat Necomplicat, 2012, revăzut, 2015
10. Sofroni L. și al.. Repere imuno-hormonale, morfologice și imunohistochimice în optimizarea tratamentului cancerului glandei mamare la pacientele cu diabet zaharat. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe medicale. 2014, p. 321- 326.
11. Sofroni Larisa și al. Conduita perioperatorie la pacientele cu cancer al glandei mamare și Diabet Zaharat tip II. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale .3(48)/2015. P.178-182
12. Sofroni Larisa, Stratan Valentina, Tcaciuc Diana. Imunodepresia – potențial factor de risc în cancerul primar – multiplu al organelor hormonodependente. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale .3(48)/2015. p.182-186
13. Sofroni Larisa, Stratan Valentina, Tcaciuc Diana. Statusul hormonal al pacientelor cu tumori maligne primar-multiple ale organelor hormonal dependente. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale .3(48)/2015. P.173-178
14. Stratan V și al. Analiza comparativă a homeostaziei hormonale în serul sangvin și limfa pacientelor cu cancer mamar. In: Buletinul informațional al Societății Științifico-Practice din Republica Moldova. nr. 2 (2012), Chișinău, 2013.p.. 71-75.
15. Tcaciuc D., Sofroni L., Tentative de profilaxie și tratament al limforeii în cadrul tratamenrtului chirurgical al cancerului glandei mamare Actualități în diagnosticul și tratamentul contemporan al

- tumorilor organelor reproducive la femei. Chişinău, 2008, p.. 167-170
16. Tcaciuc D., Sofroni L Diabetul zaharat la pacientele cu cancer mamar: particularităţi de conduită şi tratament Actualităţi în diagnosticul şi tratamentul contemporan al tumorilor organelor reproducive la femei. Chişinău, 2008, p.. 197-200
 17. Tcaciuc Diana, Ancuţa Eugen Particularităţile clinico-morfopatologice ale pacientelor cu cancer mamar şi diabet zaharat tip 2 In: Info-med. Nr. 28(2), 2016.p.. 108-117. ISSN 1810-3936
 18. 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. p.. 156-160.
 19. 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, p..191-195.
 20. 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
 21. Țîbîrnă, Gh. Noi procedee de management al serviciului oncologic în Republica Moldova / Gh. Țîbîrnă, V. Cernat, V. Bîlba // Zilele Oncologiei Iaşene : rezumate comunic. conf., a 8-a, 22-24 noiem. 2012. – Iaşi, 2012. – P. 254.
 22. Țîbîrnă, Gh. The actual situation of the oncology surgery in Republic of Moldova / Gh. Țîbîrnă, V. Cernat, V. Bîlba // Zilele Oncologiei Iaşene : rezumate comunic. conf., a 7-a, 24-26 noiem. 2011. – Iaşi, 2011. – P. 148.
 23. Берштейн Л.М. и др. Сахарный диабет и рак молочной железы. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск) № 7 / 2012 – с. 134-150
 24. Мерабишвили В.М.¹, Улыбина Ю.М., Братчиков Е.В. Сахарный диабет у онкологических больных: Как это влияет на их лечение и его результаты? X российский онкологический конгресс Материалы конгрессов и конференций, 121-199
 25. Смирнова О.М., Иванникова Е.В. Терапия сахарного диабета и риск канцерогенеза. //Проблемы эндокринологии № 2 / том 58 / 2012 – С. 52-57
 26. Ткачук Д.Б., Софрони Л.И, Эпидемиологические особенности рака молочной железы с мутацией 15382insC BRCA1 Онкология XXI века: от научных исследований -в клиническую практику. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов. Том 1. 337-338 11-13 сентября 2013 Санкт-Петербург
 27. Чернат В., Цыбырнэ Г., Пунга Ж. Заболеваемость населения Республики Молдова злокачественными новообразованиями // Вопросы онкологии : материалы 8-го Всерос. съезда онкологов, 11-13 сент. 2013. – Санкт-Петербург, 2013. – С. 210.

28. Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю., Злобнова О.А. Рак молочной железы: проблемы патогенеза // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4-1. – С. 146-151
29. “American Cancer Society - Breast Cancer Facts & Figures 2014-2015,” 2015.
30. American Diabetic Association Diagnosis and classification of diabetes mellitus Diabetes Care 35 Suppl 1 2015 S64–S71.
31. Antoniou A ş. a. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. Am J Hum Genet. 2013; p. 72
32. ASCO/CAP HER2 Test Guideline Recommendations Summary of Guideline Recommendations 2007/2013
33. Attner B ş. a. Cancer among patients with diabetes, obesity and abnormal blood lipids: a population-based register study in Sweden. 2012 Cancer Causes & Control p. 769–777
34. Ballard-Barbash R, Schatzkin A, Taylor P. 2011 Association of change in body mass with breast cancer. Cancer Research p. 152–155
35. Bao PP et al. Association of Type 2 Diabetes Genetic Variants with Breast Cancer Survival among Chinese Women. PloS one.2015;10:0117419.
36. Baron JA, et.el., 2011 Metabolic disorders and breast cancer risk (United States). Cancer Causes & Control
37. Barone BB et al. Long-term all-cause mortality in cancer patients with preexisting diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. JAMA2012;300:2754-64.CrossRefMedlineWeb of Science
38. Bartella V.et al., “New advances on the functional cross-talk between insulin-like growth factor-I and estrogen signaling in cancer,” Cellular Signalling, 2012 vol. 24, no. 8, pp. 1515–1521,
39. Belda-Iniesta C, Pernia O & Simo R 2011 Metformin: a new option in cancer treatment. Clinical and Translational Oncology 13 363–367.
40. Belfiore A & Malaguarnera R 2011 Insulin receptor and cancer. Endocrine-Related Cancer 18 125–147.
41. Bordeleau Louise et al., Diabetes and Breast Cancer Among Women With *BRCA1* and *BRCA2* Mutations Cancer. 2011 May 1; 117(9): 1812–1818.
42. Bowker SL, Richardson K, Marra CA 2011 Risk of breast cancer after onset of type 2 diabetes: evidence of detection bias in postmenopausal women. Diabetes Care 34 2542–2544.
43. Boyle P et al., “Diabetes and breast cancer risk: a meta-analysis.,” Br. J. Cancer, vol. 107, no. 9, pp. 1608–17, Oct. 2012.
44. Bronsveld HK ş. a. Trends in breast cancer incidence among women with type-2 diabetes in British general practice..Prim Care Diabetes. 2017 S1751-9918(17)30024-4

45. Brouckaert O et al., “Breast cancer phenotype, nodal status and palpability may be useful in the detection of overdiagnosed screening-detected breast cancers,” *Annals of Oncology*, vol. 24, no. 7, pp. 1847–1852, 2013
46. Bulun SE et al. 2012 Aromatase, breast cancer and obesity: a complex interaction. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 23 83–89
47. Campbell P. T et al. “Diabetes and cause-specific mortality in a prospective cohort of one million U.S. adults,” *Diabetes Care*, 2012. vol. 35, no. 9, pp. 1835–1844
48. Cancer trends progress report. Breast cancer screening. Bethesda, MD: National Cancer Institute, National Institutes of Health; 2016
49. Carmichael AR, Bates T Obesity and breast cancer: a review of the literature. *Breast cancer* 2012, p. 85–92.
50. Carstensen B, Witte DR, Friis S Cancer occurrence in Danish diabetic patients: duration and insulin effects. *Diabetologia* 2012, p 948–958
51. Chan BT-Y & Lee AV 2013 Insulin receptor substrates (IRSs) and breast tumorigenesis. *Journal of Mammary Gland Biology & Neoplasia* 13 415–422
52. Chen H. et al., “Risks of breast and endometrial cancer in women with diabetes: a population-based cohort study” 2013, vol. 8, no. 6, Article ID e67420,.
53. Chen J.-Y et al. “The impact of type 2 diabetes mellitus on mortality in hospitalized female cancer patients in Taiwan,” *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 2013, p. 134–139
54. Chen WW et al. The impact of diabetes mellitus on prognosis of early breast cancer in Asia. *Oncologist* 2012; p. 485–491
55. Chen WW et al. The impact of diabetes mellitus on prognosis of early breast cancer in Asia. *Oncologist*. 2012; p.485–91.
56. Chlebowski RT et al. Diabetes, metformin, and breast cancer in postmenopausal women. *Journal of Clinical Oncology* 2012 p.2844–2862
57. Cleveland R et al., The association of diabetes with breast cancer incidence and mortality in the Long Island Breast Cancer Study Project. *Cancer Causes & Control* 2012, p. 1193–1203
58. Cleveland RJ et al. The association of diabetes with breast cancer incidence and mortality in the Long Island Breast Cancer Study Project. *Cancer Causes Control* 2012;p. 1193–1203.
59. Cohen D. H. and LeRoith D., “Obesity, type 2 diabetes, and cancer: the insulin and IGF connection,” *Endocrine-Related Cancer*, 2012,. vol. 19, no. 5, pp. F27–F45,
60. Crosbie E. J, et al, “Body mass index, hormone replacement therapy, and breast cancer risk: a meta-analysis,” *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 2011 vol. 19, no. 12, pp. 3119–3130,
61. De Bruijn KM et al. Systematic review and meta-analysis of the association between diabetes mellitus and incidence and mortality in breast and colorectal cancer. *Br J Surg* 2013;p. 1421–1429.

62. DeSantis CE et al. Cancer treatment and survivorship statistics, *Cancer J Clin.* 2014 p. 252-271.
63. Draznin B Mechanism of the mitogenic influence of hyperinsulinemia. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2011, p. 1310-1318.
64. ECCO-the European CanCer Organisation. "Diabetes treatment can reduce mammographic density: An important risk factor for breast cancer." *Science Daily.* Science Daily, 2016.
65. Eliassen AH et al. Adult weight change and risk of postmenopausal breast cancer. *JAMA* 2014; p. 193–201
66. Erickson K et al. Clinically defined type 2 diabetes mellitus and prognosis in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2011 p.:54–60.
67. Esposito K et al. "Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer: systematic review and meta-analysis.," *Menopause*, 2013, vol. 20, no. 12, pp. 1301–1309
68. Fagan D. H et al. "Acquired resistance to tamoxifen is associated with loss of the type I insulin-like growth factor receptor: implications for breast cancer treatment," *Cancer Research*, 2012. vol. 72, no. 13, pp. 3372–3380,
69. Ferguson RD et al. Hyperinsulinemia promotes metastasis to the lung in a mouse model of Her2-mediated breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2013; p.391–401
70. Ferroni P et al. Type 2 diabetes and breast cancer: the interplay between impaired glucose metabolism and oxidant stress. *Oxid Med Cell Longev* 2015;p.:183-189
71. Fleming et al: A Comprehensive prognostic index to predict survival based on multiple comorbidities: A focus on Breast cancer. 2014 *Med Care* p. 601-614,
72. Fortunati N et al. "Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG), estradiol and breast cancer," *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol. 316, no. 1, pp. 86–92, 2010.
73. Gallagher E. J. and Leroith D., "Diabetes, cancer, and metformin: connections of metabolism and cell proliferation," *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2011 vol. 1243, no. 1, pp. 54–68,.
74. Gallagher EJ & LeRoith D The proliferating role of insulin and insulin-like growth factors in cancer. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2011 p.610–618.
75. Gallimore AM, Simon AK. Positive and negative influences of regulatory T cells on tumor immunity. In *Oncogene* 2011,p. 886-893
76. Giovannucci E et al. Diabetes and cancer: a consensus report. *Diabetes Care* 2011 p. 1674-85.
77. Goldhirsch A et al. "Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015," *Annals of Oncology*, vol. 22, no. 8, p. 1736–1747

78. Goodwin PJ et al. Insulin- and obesity-related variables in early-stage breast cancer: correlations and time course of prognostic associations. *Journal of Clinical Oncology* 2012 p. 164–171
79. Gouveri E et al.. The female breast and diabetes. *Breast* 2011;p. 205–211. [
80. Grimaldi-Bensouda L et al. “Risk of breast cancer by individual insulin use: an international multicenter study.,” *Diabetes Care*, 2014.vol. 37, no. 1, pp. 134–43
81. Gu Y et al. “Cancer incidence and mortality in patients with type 2 diabetes treated with human insulin: a cohort study in Shanghai,” 2013 vol. 8, no. 1, Article ID e53411
82. Guariguata L et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; p.137–149.
83. Guillausseau PJ et al. 2012 Abnormalities in insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes and Metabolism* 34 (Suppl 2) S43–S48.
84. Gunter MJ et al. Insulin, insulin-like growth factor-I, and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Journal of the National Cancer Institute* 2013 p. 48–60.
85. Handelsman Y et al., “Diabetes and cancer—an AACE/ACE consensus statement,” *Endocrine Practice*, 2013. vol. 19, no. 4, p. 675–693,
86. Hardefeldt P. J., S. Edirimanne, and G. D. Eslick, “Diabetes increases the risk of breast cancer: a meta-analysis.,” *Endocr. Relat. Cancer*, 2012.vol. 19, no. 6, pp. 793–803
87. He DE et al. Clinicopathological characteristics and prognosis of breast cancer patients with type 2 diabetes mellitus. *Mol Clin Oncol* 2015 p.:607–612.
88. Hemkens LG et al. Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study. *Diabetologia* 2009; 52: 1732–1744
89. Hemminki K, Li X, Sundquist J Risk of cancer following hospitalization for type 2 diabetes. *Oncologist* 2010 p. 548–555.
90. Hernandez AV et al. Association between Insulin Resistance and Breast Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2014; 9:e99317.
91. Hjalgrim H et al Cancer and diabetes – a follow up study of two population based cohorts of diabetic patients. *Journal of Internal Medicine* 2013 p. 471–475.
92. Hou G et al. Clinical pathological characteristics and prognostic analysis of 1,013 breast cancer patients with diabetes. *Breast Cancer Res Treat* 2013;137:807–16.
93. Hsieh MC et al. The influence of type 2 diabetes and glucose-lowering therapies on cancer risk. *Experimental Diabetes Research* 2012 p. 413-420.
94. Bruchim I, R. Sarfstein, and H. Werner, “The IGF hormonal network in endometrial and breast cancer: functions, regulation, and targeting approaches,” *Frontiers in Endocrinology*, 2014. vol. 5, p. 76

95. IDF Diabetes Atlas 2016. 7th ed. Brussels, Belgium, International Diabetes Federation. Available from www.diabetesatlas.org. Accessed 20 noiembrie 2016
96. Inoue M et al Diabetes mellitus and the risk of cancer. Archives of Internal Medicine 2014 p.1871–1877
97. Jia XQ et al. Indispensability of Chemotherapy in Estrogen Receptor-Negative Early Breast Cancer in Elderly Women with Diabetes Mellitus. Diabetes Technol The. 2015;p. 248–54
98. Jiralerspong S et al. Obesity, diabetes, and survival outcomes in a large cohort of early-stage breast cancer patients. Ann Oncol 2013;24:2506–14.
99. Jiralerspong S et al., “Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer.,” J. Clin. Oncol., 2010.vol. 27, no. 20, p. 3297–3302,
100. Johnson JA, Bowker SL Intensive glycaemic control and cancer risk in type 2 diabetes: a meta-analysis of major trials. *Diabetologia* 2011 p.25–31
101. Johnson JA et al. Diabetes and cancer: evaluating the temporal relationship between type 2 diabetes and cancer incidence. *Diabetologia* 2012 p. 1607–1618
102. Joshi S, Liu M, Turner N. Diabetes and its link with cancer: providing the fuel and spark to launch an aggressive growth regime. *Biomed Res Int.* 2015;390863.
103. Joung KH, Jeong JW, Ku BJ. The Association between Type 2 Diabetes Mellitus and Women Cancer: The Epidemiological Evidences and Putative Mechanisms. *Biomed Res Int.* 2015; 920618.
104. Jung S., et al., “Risk of breast cancer by hormone receptor status.,” J. Natl. Cancer Inst., 2013 vol. 105, no. 3, p. 219–236
105. Kabat GC et al. Repeated measures of the serum glucose and insulin in relation to postmenopausal breast cancer. *International Journal of Cancer* 2009 p.2704–2710.
106. Kaplan MA et al. Type 2 diabetes mellitus and prognosis in early stage breast cancer women. *Med Oncol* 2012; p.1576–80
107. Karathanasi I et al. Moving ahead in diabetics' cancer screening; food for thought from the hellenic experience. *Eur J Cancer Care* 2011;p.255–263
108. Kath R Malignancies in patients with insulin-treated diabetes mellitus. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 2011 p. 412–417
109. Kiderlen M et al. Diabetes in relation to breast cancer relapse and all-cause mortality in elderly breast cancer patients: a FOCUS analysis. *Ann Oncol* 2013; p.3011–6.
110. Kyong Hye Joung,¹ Jae-Wook Jeong,² Bon Jeong Ku¹ The Association between Type 2 Diabetes Mellitus and Women Cancer: The Epidemiological Evidences and Putative Mechanisms *BioMed Review Article Research International* 2015, p. 12 -24

111. Kyzas PA, Denaxa-Kyza D, Ioannidis JP. Almost all articles on cancer prognostic markers report statistically significant results. *Eur J Cancer* 2012;p.2559-2579.
112. Lam E. K. et al., “Associations of diabetes mellitus with site-specific cancer mortality in the Asia-Pacific region,” *Annals of Oncology*, 2011. vol. 22, no. 3 p. 730–738,
113. Lambe M et al. Impaired glucose metabolism and diabetes and the risk of breast, breast, endometrial and ovarian cancer. *Cancer Causes Control* 2011: p. 1163–1171
114. Lann D, LeRoith D. The role of endocrine insulin-like growth factor-I and insulin in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2012;p. 371–379.
115. Lawlor DA, Smith GD & Ebrahim S Hyperinsulinaemia and increased risk of breast cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study. *Cancer Causes & Control* 2014 p. 267–275.
116. Lee H et al., “Response of breast cancer cells and cancer stem cells to metformin and hyperthermia alone or combined,” , 2014 vol. 9, no. 2, Article ID e87979
117. Lee JY et al. Diabetes mellitus and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Gynecol Cancer* 2013; p.402-12.
118. Lega I. C an al. “Association between metformin therapy and mortality after breast cancer: a population-based study.,” *Diabetes Care*, 2013.vol. 36, no. 10, pp. 3018–26
119. Li C et al. Association between diagnosed diabetes and self-reported cancer among U.S. adults. Behavioural Risk Factors Surveillance System. *Diabetes Care* 2011: p. 1365–1368
120. Liao S at al. Association between diabetes mellitus and breast cancer risk: a meta-analysis of the literature. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2011 p. 1061–1065.
121. Liefvendahl E, Arnqvist HJ : Mitogenic effect of the insulin analogue glargine in malignant cells in comparison with insulin and IGF-I. *Horm Metab Res* 2012; p. 369–374
122. Lips E. H, Mulder, J. J. de Ronde 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
123. Lipscombe LL et al. The impact of diabetes on survival following breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2011;109:389–395
124. Lipscombe LL et al. The association between diabetes and breast cancer stage at diagnosis: a population-based study. *Breast Cancer Res Tr*. 2015;p. 613–620
125. Liu B at al. Metformin induces unique biological and molecular responses in triple negative breast cancer cells. *Cell Cycle* 2014; p. 2031–2040
126. Lo S.-F et al., “Modest increase in risk of specific types of cancer types in type 2 diabetes mellitus patients,” *International Journal of Cancer*, 2013 vol. 132, no. 1, p. 182–188,

127. Luo J et al. Pre-existing diabetes and breast cancer prognosis among elderly women. *B J Cancer* 2015;p. 827–832.
128. Ma FJ et al. Impact of type 2 diabetes mellitus on the prognosis of early stage triple-negative breast cancer in People's Republic of China. *Onco Targets Ther* 2014; p. 2147–54.
129. Mardilovich K, Pankratz SL, Shaw LM : Expression and function of the insulin receptor substrate proteins in cancer. *Cell Commun Signal* 2009; p.7 -14
130. Mavaddat N et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst.* 2013; p. 812-822
131. Montemurro F., Di Cosimo S and G. Arpino, “Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive and hormone receptor-positive breast cancer: new insights into molecular interactions and clinical implications,” *Annals of Oncology*, vol. 24, no. 11, pp. 2715–2724, 2013.
132. Mu L et al. Type 2 diabetes, insulin treatment and prognosis of breast cancer. *Diabetes Metab Res Rev* 2016; 10.1002/.2823.
133. Mu N., Zhu Y., Wang Y., Zhang, and F. Xue, “Insulin resistance: a significant risk factor of endometrial cancer,” *Gynecologic Oncology*, vol. 125, no. 3, pp. 751–757, 2012
134. Muck BR, Trotnow S & Hommel G Cancer of the breast, diabetes and pathological glucose tolerance. *Archiv Für Gynäkologie* 2012 p. 73–81
135. National Guideline Clearinghouse American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the management of diabetes mellitus. Screening and diagnosis, 2014
136. Nechuta S, Lu W, Zheng Y, et al. Comorbidities and breast cancer survival: a report from the Shanghai Breast Cancer Survival Study. *Breast Cancer Res Treat* 2013;p. 227–35.
137. Noto H ye фд. Significantly increased risk of cancer in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Endocr Pract* 2011;p. 616-28.
138. Novosyadlyy R et al. Insulin-mediated acceleration of breast cancer development and progression in a nonobese model of type 2 diabetes. *Cancer Res* 2010; p. 741–51
139. Onitilo A. A et al. “Diabetes and cancer : risk, survival, and implications for screening,” *Cancer Causes and Control*, 2012. vol. 23, no. 6, p. 967–981
140. Zhanget P. al., “Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030,” *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2013 vol. 87, no. 3, pp. 293–301,
141. Parise CA, Caggiano V. Breast Cancer Survival Defined by the ER/PR/HER2 Subtypes and a Surrogate Classification according to Tumor Grade and Immunohistochemical Biomarkers. *J Cancer Epidemiol.* 2014; 469251.
142. Patnaik JL, Byers T, Diguseppi C, et al. The influence of comorbidities on overall survival among women diagnosed with breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2011;p:1101–11.

143. Ferroni Patrizia et al. Type 2 Diabetes and Breast Cancer: The Interplay between Impaired Glucose Metabolism and Oxidant Stress. Review Article Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2015 Article ID 183928
144. Peairs K. S et al., "Diabetes mellitus and breast cancer outcomes: a systematic review and meta-analysis," J. Clin. Oncol., 2011.vol. 29, no. 1, pp. 40–46
145. Pfutzner A et al. Fasting intact proinsulin is a highly specific predictor of insulin resistance in type 2 diabetes. Diabetes Care 2014 p. 682–687.
146. Pollak M : Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 2011; 8: 915–928
147. Prue J Hardefeldt, Senarath Edirimanne and Guy D Eslick Diabetes increases the risk of breast cancer: a meta-analysis Endocrine-Related Cancer 2012 p. 793–803
148. Renehan AG et al. Diabetes and cancer (2): evaluating the impact of diabetes on mortality in patients with cancer. Diabetologia 2012; p.1619-32
149. Romero-Figueroa MD et al. Insulin and Leptin Levels in Obese Patients With and Without Breast Cancer. Clin Breast Cancer. 2013;p. 482–485.
150. Rosato V et al. Metabolic syndrome and the risk of breast cancer in postmenopausal women. Annals of Oncology 2011 p. 630–634.
151. Schrauder MG et al. Diabetes and prognosis in a breast cancer cohort. J Cancer Res Clin Oncol 2011;p. 975–83.
152. Shikata K, Ninomiya T, Kiyohara Y. Diabetes mellitus and cancer risk: review of the epidemiological evidence. Cancer Sci 2013; p.9-14
153. Shukla A, Grisouard J, Ehemann V. : Analysis of signaling pathways related to cell proliferation stimulated by insulin analogs in human mammary epithelial cell lines. Endocr Relat Cancer 2011; p. 429–441
154. Smith U, Gale EA : Does diabetes therapy influence the risk of cancer? Diabetologia 2011; p.: 1699–1708
155. Srokowski el al: Impact of Diabetes Mellitus on Complications and outcomes of Adjuvant chemotherapy in older patients with breast cancer. JCO 2011 p. 2170-2176
156. Stefansdottir G et al. Intensive glucose control and risk of cancer in patients with type 2 diabetes. Diabetologia 2011 p. 1608–1614.
157. Stingl J., "Estrogen and progesterone in normal mammary gland development and in cancer," Hormones and Cancer, 2011vol. 2, no. 2, pp. 85–90.
158. Tait S, Pacheco JM, Gao F, et al. Body mass index, diabetes, and triple-negative breast cancer prognosis. Breast Cancer Res Treat 2014;p. 189–97

159. Tamimi RM, Colditz GA, Hazra A, et al. Traditional breast cancer risk factors in relation to molecular subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2012; p. 159-167.
160. Thompson A. M., “Molecular pathways: preclinical models and clinical trials with metformin in breast cancer.,” *Clin. Cancer Res.*, 2014.vol. 20, no. 10, pp. 2508–15
161. Tsilidis K. K et al. Evaluation of excess statistical significance in meta-analyses of 98 biomarker associations with cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104:1867-78.
162. Van de Poll-Franse V, Houterman S, Janssen-Heijnen ML. Less aggressive treatment and worse overall survival in cancer patients with diabetes: a large population based analysis. *Int J Cancer* 2011;120:1986–92
163. Van de Poll-Franse Veronique ‘Diabetes, Cancer and patient reported outcomes’. 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. Berlin, Germany, October, 2012
164. Vaz-Luis, E. P. Winer, and N. U. Lin, “Human epidermal growth factor receptor-2-positive breast cancer: does estrogen receptor status define two distinct subtypes?” *Annals of Oncology*, 2013. vol. 24, no. 2, pp. 283–291
165. Vecchia La C et al. A case-control study of diabetes mellitus and cancer risk. *British Journal of Cancer* 2014 p. 950–953.
166. Vona-Davis L. and. Rose D. P, “Type 2 diabetes and obesity metabolic interactions: common factors for breast cancer risk and novel approaches to prevention and therapy,” *Current Diabetes Reviews*, 2012. vol. 8, no. 2, p. 116–130
167. Winder T. et al., “Insulin-like growth factor receptor polymorphism defines clinical outcome in estrogen receptor-positive breast cancer patients treated with tamoxifen,” *Pharmacogenomics Journal*, 2014vol. 14, no. 1, pp. 28–34
168. World Health Organization. The global burden of disease: 2015 update.
169. Xiao-Bo Zhao, MD and Guo-Sheng Ren, MD, PhDc, Diabetes mellitus and prognosis in women with breast cancer. A systematic review and meta-analysis *Medicine (Baltimore)*. 2016 Dec; 95(49): publicat online 2016 Dec 9
170. Xu C. X et al. “Diabetes and cancer: associations, mechanisms, and implications for medical practice,” *World Journal of Diabetes*, 2014, vol. 5, no. 3, pp. 372–380
171. Xu H et al. Metformin Use Is Associated With Better Survival of Breast Cancer Patients With Diabetes: A Meta-Analysis. *Oncologist*. 2015; p. 1236–1244.
172. Yang T, Yang Y, Liu S. Association between metformin therapy and breast cancer incidence and mortality: evidence from a meta-analysis. *J Breast Cancer* 2015; p. 264–70.
173. Yang XR et al. Associations of breast cancer risk factors with tumor subtypes: a pooled analysis from the Breast Cancer Association Consortium studies. *J Natl Cancer Inst.* 2011;p. 250-263.

174. Zendehe K et al. Cancer incidence in patients with type 2 diabetes mellitus: a population-based cohort study in Sweden. American Cancer Society, Journal of the National Cancer Institute 2011 p. 1797–1800.
175. Zhang H et al. “Inhibition of cancer cell proliferation and metastasis by insulin receptor downregulation,” *Oncogene*, 2010 vol. 29, no. 17, p. 2517–2527
176. Zhao XB1, Ren GS. Diabetes mellitus and prognosis in women with breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Medicine Baltimore*. 2016 p. 602.
177. Zhihong Gong et al. Diabetes, metformin and incidence of and death from invasive cancer in postmenopausal women: Results from the women's health initiative. *International Journal of Cancer*, 2016; p. 138- 143
178. Zhou Y et al. Influence of diabetes mellitus on mortality in breast cancer patients. *ANZ J Surg* 2015; p. 972–8.

ANEXA 1. Chestionarul de evaluare a pacientelor incluse în studiu.

1. Numele Prenumele.
2. Adresa
3. № fișei de staționar
4. № fișei de ambulator
5. Vîrsta pacientei (ani)
6. Grupul de vîrstă
 1. < 25 ani
 2. 26-35
 3. 36-45
 4. 46-55
 5. 56-65
 6. > 66
7. Locul de trai
 1. oras
 2. sat
8. Starea familiara
 1. celibatară
 2. căsătorită
 3. divorțată
9. Indicele masei corporale (IMC)
 1. 19-25
 2. 26-29
 3. 30-35
 4. 36-39
10. Starea fiziologică
 1. reproductivă
 2. climacteriu
 3. menopauză < 5 ani
 4. menopauză > 5 ani
11. Menarhe
 1. pînă la 11 ani
 2. 12-14 ani
 3. 15 ani și >
12. Zile menstruale
 1. 3 zile
 2. 4-6
 3. 7 și
13. Ritmul menstrual
 1. regulat
 2. dereglat

14. Parietatea

1. nu a născut
2. 1-3 nașteri
3. 4-5
4. 6 și >

15. Avorturi

1. 1-2
2. 3-5
3. 6-10
4. > 10
5. 0

16. CGM la rude

1. da
2. nu

17. Cr. Alte localizări la rude

1. da
2. nu

18. DZ tip 2 la rude de gradul 1

1. da
2. nu

19. Localizarea procesului

1. Superior intern
2. Hotarul cadr.superioare
3. Superior lateral
4. Hotarul cadr.externe
5. Lateral inferior
6. Hotarul cadr.inferioare
7. Medial inferior
8. Hotarul cadr.interne
9. Central
10. Mamelon
11. Plica mamara
12. Lob accesoriu
13. Toata suprafata glandei mamare

20. Forma clinica

1. Unicentrică
2. Multicentrica
3. Padjet
4. Oculta
5. Intracistica
6. Formele difuze

21. Mamografia

1. Cr
2. FA
3. FAM
4. Microcalcinate
5. Chist
6. CAP
7. Tumor filoid
8. Nu s-a efectuat

22. USG a glandei mamare

1. nu sunt date
 2. Cr
 3. Susp.Cr
 4. FAM
 5. FA
 6. Chist
- Microcalcinate

23. Citologia

1. carcinom
2. susp.carcinom
3. ep.gl. normale
4. ep.gl. cu proliferatie
5. ep.gl. cu atipie
6. cu semne de liza
7. leucocite,macrofage
8. mase nestructurate
9. lipide,eritrocite
10. histiocite
11. corpulete colostrale

24. STADIUL

1. 0 Tis NoMo
2. I T1NoMo
3. IIA ToN1Mo
4. IIA T1N1Mo
5. IIA T2NoMo
6. IIB T2N1Mo
7. IIB T3NoMO
8. IIIA ToN2Mo
9. IIIA T1N2Mo
10. IIIA T2N2Mo
11. IIIA T3N1Mo
12. IIIA T3N2Mo
13. IIIB T4NoMo
14. IIIB T4N1Mo
15. IIIB T4N2Mo
16. IIIC T1N3Mo

- 17. IIC T2N3Mo
- 18. IIC T3N3Mo
- 19. IIC T4N3Mo

Metode de depistare a extinderii procesului tumoral

- 25. Ro toracelui
- 26. USG
- 27. Scintigrafia oaselor
- 28. Tomografia mediastinului
- 29. Tomografia computerizată
- 30. Tomogr.magn.rezon.
- 31. altele

32. Patologia concomitentă.

- 1. Cardiomiopatie
- 2. HTA
- 3. Obezitate
- 4. Adenoma tiroidian
- 5. Chist tiroidian
- 6. Tiroidită autoimună
- 7. Hipotireoză
- 8. Hipertireoză
- 9. Chist ovarian
- 10. Miom uterin
- 11. Endometrită
- 12. Anexită
- 13. Polipoză
- 14. Hepatopatie cronică
- 15. Colecistită
- 16. Pancreatită
- 17. Maladie ulceroasă
- 18. Pielonefrită
- 19. Bronhopneumopatie
- 20. Tbc
- 21. Alergie

33. Termenii de depistare a DZ

- 1. Primar depistat
- 2. 1-5 ani
- 3. 6-10 ani
- 4. 11 - >
- 34. Nivelul glicemiei la adresare (cifre absolute)
- 35. Nivelul glicemiei postoperator

36. Nivelul de glicemie pe parcursul tratamentului

1. 4-6
2. 7-15
3. > 15

37. Glucozuria pe parcursul tratamentului

38. Prezența acetonei în urină pe parcursul tratamentului

1. Abs.
2. Prezentă

39. Nivelul hemoglobinei glicozilate

1. 4.5-5.7 %
2. 5.7-6.4 %
3. 6.5-7.4 %
4. 7.4-8.9 %

40. Evoluția clinică a DZ

1. compensat
2. subcompensat
3. decompensat

41. Gravitatea DZ

1. Ușoară
2. Medie
3. gravă

42. Tratamentul DZ

1. Insulinoterapia
2. Antidiabetice (biguanide) perorale
3. Nu necesită corecție medicamentoasă

43. Complicațiile Diabetului Zaharat

1. Nefropatie
2. Retinopatie
3. Polineuropatie
4. Encefalopatie
5. “picior diabetic”

44. Informativitatea pacientului

1. școlarizat
2. neinformatizat
3. primar depistat

Indicii metabolici

45. Glucoza

46. Ureea

47. Proteina totală

- 48. Creatinina
- 49. Bilirubina
- 50. Protein totala
- 51. ALAT
- 52. ASAT
- 53. A amilaza
- 54. Na
- 55. K
- 56. Ca
- 57. Colesterolul
- 58. Lipoproteide

Indicii imunității

- 59. Leucocite
- 60. limfocite
- 61. monocite
- 62. T-limfocite
- 63. T-limfocite sens.
- 64. T-limfocite rez.
- 65. B-limfocite

Indicii hormonal

- 66. Prolactina
- 67. LH
- 68. FSH
- 69. Progesteron
- 70. Cortizol
- 71. Estradiol
- 72. Testosteron
- 73. T3
- 74. T4
- 75. TSH
- 76. DHEA
- 77. Somatotropina

Tratamentul

78. Restrâns din cauza patologiei asociate

79. Tratamentul in conformitate cu extinderea procesului

1. Numai chirurgical
2. OP+RT
3. OP+CT sau RT
4. CT+RT+OP+CT+HT
5. CT+OP+CT
6. CT+OP+CT+HT
7. RT+OP+CT
8. RT+OP+HT
9. RT+OP+CT+HT
10. Alte variante

80. Prima etapă de tratament

1. Chirurgicală
2. RT fr.simple
3. RT hiperdozata
4. CT
5. CT+RT

81. Schema de CT

1. Nu s-a efectuat
2. CMF
3. CAF
4. Preparate target
5. Alte scheme

82. Nr. Curelor de CT neoadjuvante

83. Nr.curelor de CT adjuvante

84. Complicatiile tratamentului CT adjuvant

85. Eficacitatea tratamentului PCT NA

1. Nu s-a efectuat trat.preoperator
2. fără eficacitate
3. 20 %
4. 30 %
5. 40 %

6. 50 %

7. 60 % și m. mult

86. Complicațiile tratamentului PCT NA

1. leucopenia
2. agravarea cardiopatiei preexistente
3. agravarea hepatopatiei preexistente
4. agravarea nefropatiei preexistente

87. Tratamentul RT preoperator

1. Nu s-a efectuat
2. Fracții simple
3. Fracții hiperdozate

88. Complicațiile tratamentului RT preoperator

1. leucopenia
2. agravarea cardiopatiei preexistente
3. agravarea hepatopatiei preexistente
4. agravarea nefropatiei preexistente
5. epiteliita pronunțată

89. Eficacitatea tratamentului RT neoadjuvant

1. Nu s-a efectuat
2. Fără eficacitate
3. 20 %
4. 30 %
5. 40 %
6. 50 %
7. 60 % și m. mult

90. Volumul intervenției chirurgicale

1. Nu s-a efectuat
2. Rezecție sector. cu a/ loc
3. Rezecție sector. cu a/ gen
4. Rezecție sect. lărgită cu limfaden.
5. Rezecție sect.+ Madden
6. Pirogov
7. Madden

8. Halsted

91. Complicatiile tratamentului chirurgical

1. infectarea plagii postoperatorii
2. supurarea plagii postoperatorii
3. limforee > 3 sapt.
4. necroza lambourilor
5. altele

92. BRCA 1 5382 insC

1. nu s-a efectuat
2. pozitiv
3. negativ

93. Tip de creștere

1. nu este indicat
2. unicentric
3. multicentric
4. solid
5. schiros
6. mixt

94. Clasificarea morfologica

1. Cr. ductal
2. Lobular
3. Ductal+lobular
4. Tubular
5. Papilar
6. Cu metaplazie
7. Medular
8. Mucinos
9. cribros
10. intraduct. cu inceput de inv.
11. structure tubulare
12. papilare

- 13. glandulare
- 14. cu mucozitate

95. Fondul

- 1. Nu este indicat
- 2. FAM
- 3. FAM fibrozat
- 4. FAM proliferativ
- 5. Scleroză
- 6. Fibroză
- 7. Chistic
- 8. Focare de creștere tumorală
- 9. Adenoză sclerozantă
- 10. CAP
- 11. Infiltrație limfoidă
- 12. Hialinoză stromei

96. Patomorfoza

- 1. Gr.1
- 2. Gr.2
- 3. Gr.3
- 4. Gr.4
- 5. Necroza
- 6. Nu este indicat

97. Gradul de diferentiere

- 1. G1
- 2. G2
- 3. G3
- 4. G4
- 5. Nu este indicat

98. Mt in g.l. (numarul ganglionilor afectati)

- 1. Axilari
- 2. Subclaviculari
- 3. Subscapulari
- 4. Absenți

99. Diametrul tumorii

1. < 0.5
2. 0.6-1.0
3. 1.1-2.0
4. 2.0-3.0
5. 3.1-5.0
6. 5.0- >

Durata tratamentului chirurgical

100.Preoperator (zile pat)

101.Postoperatorii (zile-pat)

102.Durata internarii (zile-pat)

103.Durata limforeei

104.Cantitatea sumară a limfei

Rezultatele tratamentului

105.Fara progresare (luni)

106.Recidiv (luni)

107.Progresare (Mt peste luni)

108.Localizarea MT

1. Oase
2. Plămîni
3. Ficat
4. Ovary
5. Creier
6. Intracutane
7. Alte localizări





APROB
Vicedirector medical
IMSP Institutul Oncologic
Dr.șt.med.
Corneliu Prepelița

FIȘĂ

ce confirmă implementarea practică a elaborării:

Metodă de tratament

Clinica Institutul Oncologic din Republica Moldova
MD 2025, Chișinău, str. Testemițanu 30

1. Elaborarea ” **Economiile implementării metodei de minimizare a limforeei la bolnavele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 după mastectomie**”.

Autor: doctorand **Tcaciuc Diana**;

2. Recomandată de Consiliul de Experți al MS RM și secția Științe Medicale a AȘ RM.
3. Metoda a fost elaborată în cadrul laboratorului științific Mamologie Oncologică, secția Mamologia 1 și este aplicată în micșorarea duratei și cantității limforeei în perioada postmastectomie la paciențele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip2.
4. Instituțiile curativ-profilactice, care au implementat elaborările expuse în documentul dat:
Inovația este implementată în cadrul IMSP Institutul Oncologic, laboratorul științific Mamologie Oncologică, secțiile Mamologie 1 și Mamologie 2 și constă în utilizarea preparatului Metformin în perioada perioperatorie, în doze uzuale la paciențe cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 compensat cu micșorarea duratei și cantității limforeei, continuarea intempestivă a etapelor de tratament și micșorarea duratei de spitalizare cu beneficiul atât curativ, cât și economic.
5. Formele de implementare (seminare, pregătirea cadrelor, avize etc.) și rezultatele aplicării metodei:
Metoda este utilizată în cadrul conduitei perioperatorii și constă în în utilizarea preparatului Metformin în perioada perioperatorie, în doze uzuale la paciențe cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 compensat cu micșorarea duratei și cantității limforeei, continuarea intempestivă a etapelor de tratament și micșorarea duratei de spitalizare . Metoda a fost utilizată la paciențele din lotul de studiu și este folosită în continuare la paciențele cu diagnostic stabilit de cancer al glandei mamare asociat cu diabet zaharat tip2.

Vicedirector departamentul chirurgie,
dr.șt.med.

Vicedirector știință,
dr hab. șt. med, profesor
cercetător

 Anatol Mustea
 Iurie Bulat





APROB
Vicedirector medical
IMSP Institutul Oncologic
Dr.șt.med.
Corneliu Prepelita

FIȘĂ

ce confirmă implementarea practică a elaborării:

Metodă de tratament

Clinica Institutul Oncologic din Republica Moldova
MD 2025, Chișinău, str. Testemițanu 30

1. Elaborarea "Metoda de utilizare a factorilor de risc în deciziile medico-terapeutice la bolnavele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2"

Autor: doctorand **Tecaciuc Diana;**

2. Recomandată de Consiliul de Experți al MS RM și secția Științe Medicale a AȘ RM.
3. Metoda a fost elaborată în cadrul laboratorului științific Mamologie Oncologică, secția Mamologia 1 și este aplicată în personalizarea conduitei diagnostice și terapeutice al pacienților cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip2.
4. Instituțiile curativ-profilactice, care au implementat elaborările expuse în documentul dat: Inovatia este implementată în cadrul IMSP Institutul Oncologic, laboratorul științific Mamologie Oncologică, CCD IO, secțiile Mamologie 1 și Mamologie 2, secțiile de chimioterapie și radioterapie și constă în aplicarea conduitei diagnostice și terapeutice personalizate la pacienții cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2.

5. Formele de implementare (seminare, pregătirea cadrelor, avize etc.) și rezultatele aplicării metodei:

Metoda este utilizată în personalizarea conduitei diagnostice și terapeutice (tratamentul neoadjuvant, etapa tratamentului chirurgical, tratamentului adjuvant chimio-radioterapic și/sau tratamentului hormonal) în funcție de factorii individuali de risc depistați. Metoda a fost utilizată la paciențele din lotul de studiu și este folosită în continuare la paciențele cu diagnostic stabilit de cancer al glandei mamare asociat cu diabet zaharat tip2.

Vicedirector asistență consultativă,
dr.șt.med.

Veronica Ciobanu

Vicedirector departamentul chirurgie,
dr.șt.med.

Anatol Mustea

Vicedirector știință,
dr hab. șt. med, profesor

Iurie Bulat





APROB
Vicedirector medical
Institutul Oncologic
Dr.șt.med.
Corneliu Prepelita

FIȘĂ

ce confirmă implementarea practică a elaborării:

Metodă de tratament

Clinica Institutul Oncologic din Republica Moldova
MD 2025, Chișinău, str. Testemițanu 30

1. Elaborarea **"Algoritmul de selectare a volumului optim al tratamentului chirurgical la bolnavele cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2"**

Autori: dr.hab.șt.med. Larisa Sofroni, conferențiar cerc.,
doctorand **Tcaciuc Diana;**

2. Recomandată de Consiliul de Experți al MS RM și secția Științe Medicale a AȘ RM.

3. Metoda a fost elaborată de un grup de colaboratori ai laboratorului științific Mamologie Oncologică, secția Mamologia 1 și este aplicată în managementul tratamentului chirurgical al pacienților cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip2.

4. Instituțiile curativ-profilactice, care au implementat elaborările expuse în documentul dat:
Inovația este implementată în managementul tratamentului chirurgical al pacienților cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip2, în secțiile Mamologie 1 și Mamologie 2, IMPS Institutul Oncologic.

5. Formele de implementare (seminare, pregătirea cadrelor, avize etc.) și rezultatele aplicării metodei:

Metoda este utilizată în selectarea volumului optimal al tratamentului chirurgical al pacienților cu cancer mamar asociat cu diabet zaharat tip 2 și constă în aplicarea volumului chirurgical clasic prin mastectomie radicală sau al operațiilor organomenajante cu limfodisecție locoregională. Metoda a fost utilizată la paciențele din lotul de studiu și este folosită în continuare la paciențele cu diagnostic stabilit de cancer al glandei mamare asociat cu diabet zaharat tip2.

6. Obiecții și propuneri (text):

Vicedirector departamentul chirurgie,
dr.șt.med.

Anatol Mustea

Vicedirector știință,
Dr hab. șt. med, profesor

Iurie Bulat

DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RESPONSABILITĂȚII

Subsemnata, Tcaciuc Diana, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Tcaciuc Diana

Semnătura

CURRICULUM VITAE

Diana Tcaciuc



diana.tkaciuk@gmail.com

tel.mob. +373 79359639

14.02.1978

Collaborator științific laboratorului Mamologie Oncologică (2005)

Doctorand (2010-2014)

Studii superioare:

1995-2001 – Universitatea de Medicină și Farmacie “N.Testemițanu”, facultatea medicină generală .

2001-2005 –studii postuniversitare prin rezidențiat, specialitatea Chirurgia Generală, USMF “N.Testemițanu “

2010-2014- studii postuniversitare , doctorat, ASM, IMSP IO

Experiență profesională, stagii :

2005-2016 – colaborator științific stagiar, departamentul Mamologie Oncologică, IMSP IOncologic, chirurg-mamolog

2006 curs de perfecționare generală în Oncologie generală și Hematologie, “Metode moderne de diagnostic și tratament în Oncologie” IMSP Institutul Oncologic, Chișinău

2010 curs de perfecționare “ Cancerul bronhopulmonar. Diagnosticul și tratamentul” IMSP Institutul Oncologic, Chișinău

2010 curs de perfecționare “ Actualități în diagnosticul și tratamentul cancerului mamar IMSP Institutul Oncologic, Chișinău

2010 Curs ESO (Societatea Europeană a Oncologilor)-Program Educațional în cancerul mamar, prezent și perspective, Baile Felix, România

2011 – întărirea temei științifice de cercetare “Aspecte clinicomorfologice și imunogenetice ale cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat tip 2.

2015-Reabilitarea și tratamentul paliativ în oncologie IMSP Institutul Oncologic, Chișinău

2015- Aspecte legale și financiare în ORIZONT 2020, Academia de Științe, Republica Moldova

Domeniul de activitate științifică:

321.20 – Oncologie și Radioterapie

Tema cercetării științifice pentru studii în doctorat

Aspectele imuno-genetice și clinico-morfologice ale cancerului glandelor mamare la pacientele cu Diabet zaharat tip 2

Specialitatea Oncologie și Radioterapie 321.20

Participarea la proiecte, granturi de cercetare sau transfer tehnologic:

- „Factorii de prognostic în tratamentul cancerului glandei mamare” 2006-2010
- “Diagnosticul imunocitochimic al statutului HER2/neu prin biopsia aspirativă cu ac fin la pacientele cu cancer mamar”, proiect de transfer tehnologic, 2010-2012
- “Optimizarea tratamentului bolnavelor de cancer al glandei mamare cu diabet zaharat” 2011-2014
- “ Particularitățile biologice ale tumorii ca factori decisive în tratamentul complex al cancerului glandei mamare” 2015-2018

Participări la forumuri științifice naționale și internaționale:

- 2010 Congresul bienal de Cancer Mamar, Băile Felix, România
- 2010 Curs ESO (Scoala Europeana a Oncologilor)-program educațional în cancerul mamar,prezent și perspective, Băile Felix, România
- 2010 Conferința națională „ Zilele Oncologiei Iașene,, Iași,România
- 2011 Eurasian Cancer Diagnostic Forum Ukraine, Kyiv

- 2011 XII Съезд онкологов Украины, Ukraine, Sudac, Krim
 - 2012 Congresul Internațional Cancerul mamar: de la teorie la practică, Oradea, România
 - 2012 „Zilele Oncologiei Ieșiene, ediția a VIII-a,, Iași, România
 - 2012 Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, România
 - 2012 Simpozion Științific Aspecte contemporane în tratamentul infecțiilor virale sexual transmisibile, Moldova-Rusia
 - 2013 Confer, Zilele Oncologiei Ieșiene, ediția a IX, Iași, România
- Naționale (Moldova, Chișinău)
- 2008 Simpozionul Național „ Actualități în diagnosticul și tratamentul contemporan al tumorilor organelor reproductive la femei,, Chișinău,Moldova
 - 2010 Congresul III Național de Oncologie, Chișinău,Moldova
 - 2011 Conferința științifico-practică ”Tehnologii Moderne în Oncologie” Chișinău,Moldova
 - 2011 Conferința științifico-practică ”Aplicări de lasere în medicină”, Chișinău,Moldova
 - 2012 Simpozion Științific ”Aspecte contemporane în tratamentul infecțiilor virale sexual transmisibile”, Moldova-Rusia
 - 2012 Seminar științifico-practic ” Managementul maladiilor în baza protocoalelor clinice” Chișinău,Moldova
 - 2012 Seminar științifico-practic ”Riscul cancerului de sân vis-a-vis de terapia de substituție hormonală la pacienți în menopauză ”
 - 2012 Conferința științifico-practică ”Posibilități moderne în diagnosticul și tratamentul patologiilor oncologice orbitale”
 - 2013 Conferința științifico-practică ”Actualități în neurooncologie” , Chișinău,Moldova
 - 2013 Conferința științifico-practică ”Patologia nodulară și cancerul glandei tiroide”
 - 2013 Conferința științifico-practică ” Managementul chirurgiei miniinvazive în oncologie” Chișinău,Moldova
 - 2013 Transfer tehnologic și de inovare Diagnosticul imunocitochimic a statutului Her/2 nou prin biopsie aspirativă cu ac fin la pacienții cu cancer mamar

- 2014 CONFER Conferința Institutului Oncologic Regional Iași
 - 2015 Congresul IV Național de Oncologie , 8-9 octombrie, Chișinău, Republica Moldova
 - 2015 Congresul al XII-lea al Asociației Chirurgilor « Nicolae Anestiadi» din Republica Moldova 23-25 septembrie
 - 2016 Cursul European – *Breast cancer - centimetric / infracentimetric forms - origin, detection, treatment*. Craiova, România
 - 2016 Școala de vară Actualități în diagnosticul și tratamentul Cancerului Mamar, Iași, România
 - 2016 Simpozion național cu participare internațională consacrat aniversarii de 40 ani ai Catedrei Oncologie, Hematologie si Radioterapie „Vigilenta oncologica in activitatea medicala, depistarea precoce si tratamentul tumorilor”, Chișinău, Moldova
 - 2016 Cursul EUROSON SCHOOL, Breast Cancer. Lobar Origic, lobar multimodal ultrasound diagnosis and lobar treatment-perspectives. 22-23 iunie 2016, Craiova, România
 - 2016 The EUROMED Cancer Screening Network. Cancer screening and early diagnosis strategies in limited resource settings, VI workshop Organized by the CPO WHOCC for cancer early detection and screening In collaboration with WHO Regional Offices for Europe Italy,Turin, 12-14 December 2016
- 36 de lucrări științifice în reviste naționale și internaționale
- 3 inovații științifice 2 cereri de brevet