

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE CRAIOVA
FACULTATEA DE MEDICINA GENERALA**

**TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT**

**STUDIUL CLINIC, MORFOLOGIC SI
IMUNOHISTOCHIMIC LA UN LOT DE
BOLNAVE CU CANCER MAMAR**

**ÎNDRUMĂTOR ȘTIINȚIFIC
prof. univ. dr. Laurentiu Mogoanta**

**DOCTORAND
Dragos Mihai PLEȘAN**

CRAIOVA 2012

CUPRINS

I. Motivația, obiectivele și scopul cercetării.....	3
Prezentarea cercetărilor personale.....	4
II. Materiale și Metode.....	4
III. Rezultate.....	6
A.Studiu clinic al tumorilor sanului.....	6
B.Studiu histopatologic al tumorilor sanului.....	7
C.Studiu imunohistohimic al tumorilor sanului.....	8
IV. Discuția Rezultatelor.....	11
V.Concluzii.....	19
VI Cuvinte cheie.....	22
VII Bibliografie selectivă	22
VIII. Curriculum vitae al doctorandului.....	25
IX. Lucrări științifice publicate.....	26

Teza de doctorat este structurată pe două părți: o parte generală și o parte specială. În partea generală am consemnat și discutat informațiile din literatura de specialitate, aduse la zi, privind neoplaziile sanului și tratamentul tumorilor sanului.

În partea specială sunt expuse motivația și obiectivele cercetării, rezultatele observațiilor personale și discuția lor în contextul cercetarilor similare din țară și străinătate.

I. MOTIVAȚIA, OBIECTIVELE ȘI SCOPUL CERCETĂRII

Cancerul sânelui continuă să fie o problemă de mare actualitate în oncologie deoarece pe de o parte frecvența îmbolnăvirilor prin această localizare se menține la un nivel ridicat, iar pe de altă parte evoluția este gravă mai ales în stadiile avansate. În plus, au apărut modalități de reducere a mortalității, screening-ul mamar permițând descoperirea bolii înainte de a avea manifestări clinice sau în stadii puțin avansate, situații în care procentul de vindecare este foarte ridicat (*Bălănescu I, Blidaru I. 2003*).

Incidența cancerului sânelui pe glob crește în fiecare an și este responsabil pentru aproximativ 23% din toate cazurile noi de cancer la femei.

În fiecare an pe glob sunt diagnosticate cu cancer al sânelui 1.100.000 de femei. În fiecare an decedează prin cancer al sânelui 410.000 de femei. Estrogenii contribuie la creșterea cancerului sânelui în multe cazuri. În fapt cancerul sânelui este dependent de estrogen în 2/3 din cazuri (*Tyczynski JE et al, 2002*).

În SUA s-a estimat că 1 din 8 femei pot dezvolta cancer al sânelui pe perioada vieții ei. La fiecare 2 minute, o femeie este diagnosticată cu cancer al sânelui. Pentru anul 2006 s-a estimat că vor fi diagnosticați cu cancer al sânelui 212.920 de femei și 1720 de bărbați. În anul 2006 vor deceda prin cancer al sânelui 40.970 de femei. Din 1998 până în 2002, în jur de 95% din cazurile noi și 97% din decesele prin cancer al sânelui au apărut la femeile cu vârsta >40ani. (*Tyczynski JE, 2002*).

Riscul pe viață de a dezvolta cancer al sânelui pentru femeile din Europa este de 1 din 10.

Incidența cancerului de sân în Europa crește în fiecare an și este responsabil pentru aproape 30% din toate cazurile noi. În fiecare an în Europa sunt diagnosticate cu cancer al sânelui aproximativ 360.000 de femei (*Ferlay J 2007*). În ciuda progreselor din diagnosticul și tratamentul cancerului de sân, acesta este cea mai frecventă cauză de deces la femeile cu vârsta între 35 și 55 de ani. În Europa în fiecare an mor prin cancer al sânelui 130.000 de femei (*Ferlay J, 2007*).

În România incidența brută estimată pentru anul 2002 a fost de 64 de cazuri noi la 100.000 de femei, reprezentând 7273 de cazuri noi de cancer al sânelui. Decesele estimate prin cancer al sânelui pentru anul 2002 au fost de 2982 de cazuri reprezentând o mortalitate brută de 26,2 la 100.000 de femei.

În prezenta lucrare studiul tumorilor sanului a fost dirijat in trei direcții:

- studiul clinic
- studiul histopatologic
- studiul imunohistochimic

În *studiu clinic* au fost incluși 562 de pacienți, pentru care s-au studiat fișele de evidență ONC 2, protocoalele operatorii ale sălii de operație, registrul unic al serviciului de anatomie patologică, foile de observație pe o perioadă de 10 ani: 1996-2005. La acești pacienți s-a urmărit repartiția tumorilor sânului în funcție de sex, vârstă, localizarea tumorii, locul reședinței, mărimea tumorală, localizarea tumorii, tipul histopatologic, gradingul tumoral, complicațiile bolii existente în momentul intervenției chirurgicale sau care au apărut în cursul evoluției bolii, stadiul TNM al bolii și supraviețuirea generală și repartizată pe stadii.

Studiul histopatologic a fost efectuat pe un lot de 562 de pacienți pe o perioadă de 10 ani 1996-2005. La acest lot s-a urmărit localizarea tumorii, aspectul macroscopic al tumorii, mărimea tumorală, tipul histopatologic al tumorii, gradingul histologic, invazia în ganglionii limfatici, stadializarea pTNM. Materialul cercetat în acest studiu a fost reprezentat de material uman, respectiv de țesut mamar provenit de la 562 paciente cu diagnosticul de carcinom mamar invaziv, internate în Secția de Oncologie Medicală, Drobeta Turnu Severin, în intervalul de timp cuprins între 1996-2005, la care s-a efectuat mastectomie simplă, mastectomie cu eviderare ganglionară axilară sau sectorectomie.

Studiul imunohistochimic Materialul cercetat în acest studiu a fost reprezentat de material uman, respectiv de țesut mamar provenit de la 100 paciente internate în Secția de Oncologie Drobeta TR. Severin, în intervalul de timp cuprins între 1996-2005, la care s-a efectuat mastectomie simplă, mastectomie cu eviderare ganglionară axilară, sectorectomie sau puncție biopsie. Scopul acestui studiu a fost evidentierea unor corelații între markerii celulari Ki67, P53, Her 2 neu, receptorii hormonal și gradul histologic, prognosticul în carcinoamele mamare.

PREZENTAREA CERCETĂRILOR PERSONALE.

II. MATERIAL ȘI METODE UTILIZATE ÎN REALIZAREA CERCETĂRII

Studiul clinic a inclus 562 de pacienți cu cancer mamar și a fost efectuat pe perioadă de 10 ani, 1996-2005.

În studiu au fost incluși 562 de pacienți, pentru care s-au studiat fișele de evidență ONC 2, protocoalele operatorii ale sălii de operație, registrul unic al serviciului de anatomie patologică, foile de observație pe o perioadă de 10 ani: 1996-2005. La acești pacienți s-a urmărit repartiția tumorilor sânului în funcție de sex, vârstă, localizarea tumorii, locul reședinței, mărimea tumorală, localizarea tumorii, tipul histopatologic, gradingul tumoral,

complicațiile bolii existente în momentul intervenției chirurgicale sau care au apărut în cursul evoluției bolii, stadiul TNM al bolii și supraviețuirea generală și repartizată pe stadii.

Din studiul protocoalelor operatorii s-au cules date privind aspectul macroscopic al tumorii, mărimea tumorală, localizarea tumorii, tipul intervenției chirurgicale efectuat (radical și paleativ), complicațiile datorate bolii existente în momentul intervenției chirurgicale sau care au apărut în cursul evoluției bolii.

Din studiul registrului de anatomie patologică s-au cules datele privind natura benignă sau malignă a tumorii, tipul histopatologic al tumorii, gradul histologic, invazia în tesuturile adiacente tumorii, invazia în ganglionii limfatici, stadializarea pTNM.

Din studiul registrului de evidență a pacientului oncologic (fișa ONC 2) și a foilor de observație ale pacientului s-au cules date privind sexul, vârsta, locul de reședință, stadiul pTNM, tratamentul adjuvant efectuat, momentul apariției recidivei tumorale, supraviețuirea, data decesului.

Din cazurile internate în Spitalul Județean Drobeta-Turnu Severin pe o perioadă de 10 ani 1994-2004 la 562 de pacienți s-a stabilit diagnosticul de tumoră a sânului. În studiu au intrat numai cazurile confirmate și verificate histopatologic.

Studiul histopatologic

Materialul cercetat în acest studiu a fost reprezentat de material uman, respectiv de țesut mamar provenit de la 562 paciente cu diagnosticul de carcinom mamar invaziv, internate în Secția de Oncologie Medicală, Drobeta Turnu Severin, în intervalul de timp cuprins între 1996-2005, la care s-a efectuat mastectomie simplă, mastectomie cu evidare ganglionară axilară sau sectorectomie.

La acest lot s-a urmărit tipul histopatologic al tumorii, gradul histologic, invazia în peretele intestinal, invazia în ganglionii limfatici, stadializarea pTNM. Pentru toate cele 562 de carcinoame mamare invazive diagnosticate pe colorația hematoxilină-eozină s-a realizat încadrarea în unul din tipurile și subtipurile histopatologice corespunzătoare conform criteriilor OMS (*Ellis IO și col., 2003*). Ulterior a fost apreciat gradul de malignitate histologică (gradul de diferențiere al tumorii) conform scorului combinat Nottingham. Conform acestui sistem de gradare, se acordă un punctaj între 1-3 pentru următorii parametri: formarea de tubi, pleomorfismul nuclear și numărul de mitoze. Scorul total reprezintă suma acestor 3 punctaje, fiind gradat astfel: scor 3-5 = grad I (G1), scor 6-7=grad II (G2) și scor 8-9=grad III (G3).

Materialul biologic pentru studiile de microscopie optică și imunohistochimie a fost recoltat imediat după intervenția chirurgicală, fiind format din fragmente de tumoră recoltate din materialul de excizie chirurgicală. Acest material a fost fixat imediat după recoltare în soluție de formol neutru 10%.

Pentru evidențierea structurilor histologice am executat secțiuni seriate care au fost colorate prin trei metode larg utilizate în țară și în întreaga lume:

- metoda colorării cu hematoxilină-eozină (H.E.);
- metoda colorării cu verde de lumină - tehnica Goldner-Szekelly (G.S.) pentru evidențierea electivă a fibrelor de colagen;
- metoda colorării PAS-hematoxilina pentru punerea în evidență a glicozaminoglicanilor din unele tumori.

Studiul imunohistochimic

Materialul cercetat în acest studiu a fost reprezentat de material uman, respectiv de țesut mamar provenit de la 100 paciente internate în Secția de Oncologie Drobeta TR. Severin, în intervalul de timp cuprins între 1996-2005, la care s-a efectuat mastectomie simplă, mastectomie cu evidare ganglionară axilară, sectorectomie sau puncție biopsie.

Aceste piese de exereză chirurgicală au fost fixate în formol și prelucrate inițial prin tehnica uzuală de includere la parafină în cadrul laboratorului de anatomie patologică al Spitalului Județean de Urgență Drobeta Turnu Severin, fiind aduse până la stadiul de bloc de parafină. Ulterior s-a realizat prelucrarea imunohistochimică în cadrul Laboratorului de Imunohistochimie de la disciplina de Morfopatologie a UMF Craiova.

Toate cele 100 de cazuri de carcinoame mamare invazive incluse în acest studiu au fost investigate din punct de vedere imunohistochimic. Acestea au corespuns pe colorațiile uzuale următoarelor tipuri histologice: carcinom mamar ductal invaziv (90 de cazuri) și carcinom mamar lobular invaziv (10 cazuri).

Metoda utilizată în cadrul *studiului imunohistochimic* a fost una dintre metodele bazate pe complexe imunoenzimatiche solubile, numită **LSAB/HRP** (*labelled streptavidin biotin*). Chitul utilizat a fost DAKO LSAB 2 System HRP (Universal DAKO Labeled Streptavidin Biotin 2 System Horseradish Peroxidase).

Metoda LSAB (cu streptavidină-biotină) este una din metodele numite ABC (avidin-biotin complex), în care se substituie avidina cu streptavidina și are la bază conjugarea directă a streptavidinei cu moleculele enzimatiche. Streptavidina este un analog tetrameric al avidinei, cu o greutate moleculară de 60 kDa, extras din bacteria *Streptomyces avidinii*, care este capabil să lege, cu o mare afinitate, moleculele de biotină. Această afinitate este teoretic de zece ori mai mare decât cea a anticorpilor pentru antigenele lor, ducând la o detectare specifică intensă și la o amplificare a legăturilor antigen-anticorp. Scopul acestui studiu a fost evidentierea unor corelații între markerii celulari Ki67, P53, Her 2 neu, receptorii hormonalni și gradul histologic, prognosticul în carcinoamele mamare.

III.REZULTATE

A. Studiu clinico-statistic Studiul a fost efectuat pe perioadă de 10 ani, 1996-2005 și a inclus 562 de pacienți cu cancer mamar

Incidența cancerului de sân în județul Mehedinți în perioada 1996-2005 a fost de 21,91 la 100000 de locuitori.

Incidența cancerului de sân în județul Mehedinți în perioada 1996-2005 a fost de 21,91 la 100000 de femei. Incidența cancerului de sân a crescut de la 19,95 la 100000 de femei în 1996 la 30,49 la 100000 de femei în 2005

Mortalitatea prin cancer de sân în județul Mehedinți în perioada 1996-2007 a fost de 11,70 la 100000 de locuitori. Mortalitatea prin cancer al sânului a crescut de la 8,46 la 100000 de femei la 13,95 la 100000 de femei în 2007.

Raportul Barbați/femei a fost de 1,01/98,9 cancerul mamar fiind prezent doar la 6 pacienți bărbați din lotul de 562 de pacienți.

Raportul urban/rural fost de 1,65, rezidența urbană fiind constatată la 350 de pacienți, ceea ce reprezintă 62,27%, în timp ce 212 pacienți (37,24%) au avut rezidență rurală.

Varsta Incidența maximă a cancerului mamar a fost la grupa de vârstă 50-59 ani și a inclus 158 de paciente, reprezentind 28,11%.

Localizarea cancerului la nivelul sânului stîng a fost prezentă la 286 de cazuri (50,88%), la nivelul sânului drept a fost prezentă la 271 de cazuri (48,22%), iar cancerul mamar bilateral a fost prezent la 5 cazuri (0,88%).

Semne și simptome Cele mai frecvente semne și simptome au fost: tumora mamară la 522 de paciente (93%), adenopatie axilară homolaterală la 382 de paciente (68%), mastita carcinomatoasă la 39 de paciente (6,9%), edem al brațului la 21 de paciente (3,7%),

scurgere mamelonară la 9 paciente (1,6%), metastaze osoase la 27 de paciente (4,8%), 7. Metastaze hepatice la 18 paciente (3,2%).

Tipuri Histologice Cele mai frecvente au fost: carcinomul ductal invaziv la 138 de pacienți reprezentind 90%, carcinomul lobular invaziv la 7 pacienți (4,6%), carcinomul în situ la un pacient (0,8%), carcinomul medular la 3 pacienți (2%) din cazuri, sarcomul la un pacient (0,7%), carcinomul scuamo celular la un pacient (0,7%) și carcinomul metastatic la un pacient (0,7%).

Grading histologic Repartiția tumorilor în funcție de gradul histologic a fost următoarea: grading histologic G1 la 35 de pacienți (22%), grading histologic G2 la la 76 de paciente (50%), grading histologic G3 la 41 de pacienți (23%).

Stadializare TNM A fost posibilă la 532 de pacienți reprezentind 94,66% din cazuri, iar la 30 de pacienți (5,93%) din pacienți stadiul a fost necunoscut.

Repartiția pe stadii TNM a fost următoarea: stadiul I a fost stabilit la 18 cazuri (3,2%), stadiul II la 177 cazuri (31,49%), stadiul III la 275 de cazuri (48,93%), stadiul IV a fost diagnosticat la 62 de cazuri (11,03%), stadiul a fost necunoscut la 30 de pacienți (5,93%).

Metastazele Au fost prezente la 110 pacienti, fie de la inceput ca stadiul IV de boala, la 62 de paciente (56,36%), fie au aparut ulterior în cursul evoluției bolii la 50 de pacienți (45,45%). Sediul metastazelor a fost : metastaze osoase la 61 de pacienți (55,45%), metastaze hepatice la 28 de pacienți (25,45%), metastaze pleurale la 20 de pacienți (18,18%), metastaze pulmonare la 19 pacienți (17,27%), metastaze ganglionare la 14 pacienți (12,72%), metastaze cerebrale la 9 pacienți (8,18%), metastaze peritoneale la 9 pacienți (8,18%), metastaze cutanate la 6 pacienți (5,45%), metastaze percardice la 3 pacienți (2,72%).

Numarul sediilor metastatice: 1 singur sediu metastatic la 56,36%, 2 sedii metastatice la 33,63%, 3 sedii metastatice la 9,09% și 4 sedii metastatice la 0,9%.

Metastazele sincrone Din lotul de 562 de pacienți cu cancer al sânului studiat, 62 de pacienți au prezentat la stabilirea diagnosticului metastaze sincrone, reprezentind 11,03%. Frecvența metastazelor a fost: metastaze osoase 61,8%, metastaze hepatice 21,7%, metastaze pleurale 31,4%, pulmonare 14,2%, cerebrale 2,3%, cutanate 3,5%.

Supraviețuirea generala *Supraviețuirea la 5 ani* pentru toate stadiile a fost de 50,43%

Supraviețuirea pe stadii

Supraviețuirea la 5 ani în cancerul mamar repartizat pe stadii a fost următoarea: pentru stadiul I a fost de 90,90%, pentru stadiul II de 75,28%, pentru stadiul III de 43,42%, pentru stadiul IV a fost de 19,56%.

Supraviețuirea la 5 ani la întreg lotul studiat (353 cazuri) a fost de 49,85%.

Numărul cazurilor decedate la 5 ani de la stabilirea diagnosticului a fost de 176 reprezentând 50,14%.

Numărul deceselor repartizat pe ani a avut următoarea evoluție: la 1 an au decedat 65 de cazuri (36,7%), la 2 ani au decedat 61 de cazuri (34,4%), la 3 ani au decedat 21 de cazuri (11,8%), la 4 ani au decedat 17 cazuri (9,6%), la 5 ani au decedat 6 cazuri (2,8%).

B. Studiu histopatologic

Studiul histopatologic a permis, într-o primă etapă, încadrarea celor 562 de carcinoame mamare invazive, conform clasificării OMS, în unul din tipurile și subtipurile următoare: carcinom ductal invaziv NOS (not otherwise specified – tipul nespecific de carcinom ductal invaziv) - 385 cazuri (68,51%), carcinom lobular invaziv - 84 cazuri (14,94%), tipul clasic - 47 cazuri (55,95%), tipul solid - 9 cazuri (10,71%), tipul alveolar - 14 cazuri (16,66%), tipul tubulo-lobular - 4 cazuri (4,76%), pleiomorf (inclusiv tipul histiocitoid pleiomorf și

cu celule în inel cu pecete) - 10 cazuri (10,90%), carcinom mixt ducto-lobular - 29 cazuri (5,16%), carcinom tubular - 18 cazuri (3,2%), carcinom cribriform invaziv - 12 cazuri (2,13%), carcinom mucinos - 11 cazuri (1,96%), tipul hipocelular - 8 cazuri, tipul hiper celular - 3 cazuri, carcinom medular - 6 cazuri (1,07%), carcinom invaziv micropapilar - 7 cazuri (1,25%), carcinom cu celule bogate în glicogen - 5 cazuri (0,89%), carcinoame metaplazice: carcinom scuamos pur - 4 cazuri (0,71%), carcinom adenoid-chistic - 1 caz (0,17%).

Gradul de diferențiere al tumorilor (gradul de malignitate histologică) a fost evaluat conform sistemului de gradare Nottingham, tumorile fiind clasificate în: carcinoame mamare invazive G1- 96 cazuri (17, 08%), carcinoame mamare invazive G2- 265 cazuri (47,16%), carcinoame mamare invazive G3- 201 cazuri (35,76%).

Carcinomul ductal invaziv NOS

Carcinomul ductal invaziv NOS (nespecificat altfel, de tip nespecific) a reprezentat cea mai mare proporție de carcinoame mamare studiate, fiind diagnosticat la 385 de paciente și reprezentând astfel 68,51% din cazurile de carcinom mamar infiltrativ.

Carcinomul lobular invaziv Carcinoamele lobulare invazive au fost diagnosticate la 84 de paciente, reprezentând 14,94% din cazurile incluse în lotul de studiu.

Carcinomul lobular tipul clasic Carcinomul lobular tipul clasic a fost diagnosticat în 47 cazuri, reprezentând 55,95% din carcinoamele lobulare invazive din acest studiu.

Carcinomul lobular tipul tubulo-lobular Carcinomul lobular tipul tubulo-lobular a fost diagnosticat în 4 cazuri, la care peste 90% din tumoră a prezentat un patern de tip tubulo-lobular.

Carcinomul lobular invaziv tipul solid Carcinomul lobular invaziv tipul solid a fost diagnosticat la 9 pacienți, reprezentând 10,71% din totalitatea carcinoamelor lobulare infiltrative.

Carcinomul lobular invaziv tipul alveolar Carcinomul lobular invaziv tipul alveolar a fost întâlnit la 14 pacienți, reprezentând 16,66 % din totalitatea carcinoamelor lobulare infiltrative.

Carcinomul lobular cu celule în inel cu pecete a fost diagnosticat în 2 cazuri.

Carcinomul mamar tipul mixt ducto-lobular Carcinomul mamar tipul mixt ducto-lobular a fost evidențiat în 29 de cazuri ce au reprezentat 5,16% din totalitatea carcinoamelor mamare invazive studiate.

Carcinomul tubular a fost întâlnit în studiul de față în 18 cazuri, reprezentând 3,2% din totalitatea carcinoamelor mamare invazive studiate.

Carcinomul medular a fost diagnosticat în 6 cazuri, reprezentând 1,07% din carcinoamele incluse în studiu.

Carcinomul mucinos a fost diagnosticat în 11 cazuri, la paciente peste 55 de ani și a reprezentat 1,96% din cazurile analizate.

C. Studiu imunohistochimic

Toate cele 100 de cazuri de carcinom mamar invaziv studiate în intervalul de timp cuprins între 1996-2005, au fost prelucrate histopatologic și imunohistochimic. Cazurile analizate au fost tumori mamare aparținând unor paciente cu vârsta cuprinsă între 28 și 78 de ani (37 de paciente sub 50 de ani și 63 de paciente ≥ 50 de ani). Tumorile au avut dimensiuni mai mici sau egale cu 2 cm, în 35 de cazuri și mai mari de 2 cm, în 65 de cazuri.

Analiza imunomarcajului pentru receptorii hormonalii(ER și PR)

Receptorii estrogenici (ER) au fost pozitiv (scor Allred ≥ 3) în 61% din cazuri, iar receptorii progesteronici (PR) în 64% din cazuri.

Raportat la tipul histologic, carcinoamele ductale invazive au exprimat receptori estrogenici în 53 de cazuri (58,88%) și receptori progesteronici în 57 de cazuri (63,33%), în timp ce carcinoamele lobulare invazive au exprimat receptori estrogenici în 8 cazuri (80%) și receptori progesteronici în 7 cazuri (70%).

În funcție de imunoexpresia receptorilor hormonalți carcinoamele mamare se clasifică în patru subtipuri sau fenotipuri. Astfel, se descriu carcinoame mamare care exprimă ambele tipuri de receptori hormonalți (fenotipul ER pozitiv/PR pozitiv), carcinoame mamare negative pentru ambele tipuri de receptori hormonalți (fenotipul ER negativ/PR negativ) și carcinoame mamare care exprimă doar unul dintre receptorii hormonalți (fenotipuri heterogene: ER negativ/PR pozitiv și ER pozitiv/PR negativ).

Majoritatea cazurilor (57%) au prezentat ambele tipuri de receptori având un fenotip ER pozitiv/PR pozitiv. 32% din cazuri au fost complet lipsite de receptori hormonalți având un fenotip ER negativ/PR negativ. Restul cazurilor (11%) au avut un fenotip heterogen. Astfel, 7% din cazuri au fost ER negativ/PR pozitiv, iar 4% din cazuri au fost ER pozitiv/PR negativ (Tabel 6).

Fenotipul ER pozitiv/PR pozitiv a fost întâlnit la 55,55% (50 cazuri) dintre carcinoamele ductale invazive vs. 70% (7 cazuri) dintre carcinoamele lobulare invazive, iar fenotipul ER negativ/PR negativ a fost prezent în 33,33% (30 cazuri) dintre carcinoamele ductale vs. 20% (2 cazuri) din carcinoamele lobulare. Un fenotip particular privind rezultatele la terapia anti-hormonală, evoluția și prognosticul este cel ER pozitiv/ PR negativ, fapt pentru care am analizat acest fenotip raportat la fenotipul clasic ER pozitiv/PR pozitiv în funcție de o serie de parametrii morfo-clinici: vârsta pacienților, dimensiunile tumorilor, tipul și gradul histologic al tumorilor.

Astfel, fenotipul ER pozitiv/ PR negativ a fost mai frecvent întâlnit la pacientele cu vârsta peste 50 de ani, comparativ cu fenotipul ER pozitiv/PR pozitiv (75% din cazuri vs. 68,42%). Tumorile ER pozitive/ PR negative au fost mai mari (peste 2 cm) decât tumorile ER pozitive/PR pozitive (50% din cazuri vs. 42,11%). De asemenea, majoritatea tumorilor ER pozitive/ PR negative au fost de tip carcinom ductal invaziv, acestea exprimând mult mai frecvent fenotipul ER+/PR- decât carcinoamele lobulare (75% cazuri vs 25% caz). S-a remarcat faptul că toate cazurile ER pozitive/ PR negative au avut valori destul de scăzute ale scorului Allred pentru estrogeni, acest scor fiind sub 6.

Analiza imunomarcajului la HER 2 a permis evidențierea a 15 cazuri (reprezentând 15% din cazurile studiate) de carcinom mamar invaziv pozitive la HER 2. Dintre acestea 10 cazuri (reprezentând 66,66%) au fost slab pozitive (scor 2+), iar 5 cazuri (reprezentând 33,34%) au fost interpretate cu scor 3+ (pozitiv) conform criteriilor ASCO-CAP

În urma corelării imunomarcajului HER2 cu parametrii morfo-clinici s-a observat că tumorile HER2 pozitive au aparținut ușor mai frecvent pacientelor sub 50 de ani (8 cazuri, respectiv 53,33%) față de cele peste 50 de ani (7 cazuri, respectiv 46,67%).

Tumorile HER2 pozitive au fost mai frecvent tumori cu dimensiuni peste 2 cm. Astfel, 8 tumori cu dimensiuni peste 2 cm (reprezentând 53,33%) au fost HER2 pozitive, în timp ce 7 tumori mai mici de 2 cm (reprezentând 46,67%) au fost HER2 negative.

Corelând imunomarcajul tumorilor la HER2 cu tipul lor histologic s-a observat că un singur caz de carcinom de tip lobular (10% din carcinoamele lobulare au fost HER2 pozitive) a fost pozitiv moderat la HER 2 (scor 2+). Toate celelalte 14 cazuri HER 2 pozitive au fost de tip ductal (9 cazuri cu scor 2+ și 5 cazuri cu scor 3+). Astfel, 15,55% din carcinoamele ductale invazive au fost HER2 pozitive. Similar, tumorile HER2 pozitive au fost de tip lobular în procent de 6,66% și de tip ductal în procent de 93,34% din cazuri.

În ceea ce privește gradul histologic, majoritatea cazurilor HER2 pozitive (12 cazuri, respectiv 80%) au fost de grad înalt (G3) și doar 3 cazuri (reprezentând 20%) au

avut grad histologic scăzut (G1 și G2). Astfel, toate cele 14 cazuri de grad histologic G1 au fost HER 2 negative, cazurile cu grad histologic G2 au fost pozitive în proporție de doar 6,52% (3 cazuri), în timp ce tumorile de grad histologic G3 au fost pozitive în proporție de 30% din cazuri (12 cazuri).

Analiza imunomarcajului la Ki 67 a evidențiat prezența pozitivității la acest marker în toate cazurile studiate. Marea majoritate a cazurilor au avut un marcaj nuclear la Ki 67, dar două cazuri (2% din cazuri) au avut marcaj citoplasmatic/membranar. Marcajul specific la Ki 67 este cel nuclear și a fost întâlnit în 98 de cazuri. Astfel, am constatat că pacientele cu vârsta sub 50 de ani au avut mai frecvent un index Ki67 înalt (peste 15% din celulele tumorale fiind pozitive la Ki 67) comparativ cu pacientele peste 50 de ani (60% din cazuri vs 55,55%). De asemenea pacientele cu tumori mai mari de 2 cm au avut mai frecvent un index Ki 67 înalt comparativ cu cele cu tumori sub 2 cm (71,42% vs 51,43%).

În ceea ce privește tipul histologic al carcinoamelor analizate s-a constatat că tipul lobular a avut un index Ki 67 scăzut în toate cazurile, în timp ce tipul ductal invaziv a avut un index Ki 67 scăzut în 43,87% din cazuri și un index înalt în 56,12% din cazuri. Raportat la gradul histologic, tumorile de grad înalt (G3) au avut întotdeauna un index Ki 67 înalt, comparativ cu tumorile de grad scăzut (G1/G2) care au avut un index de proliferare crescut în doar 8,62 % din cazuri.

O activitate proliferativă crescută (un index Ki 67 înalt) s-a observat mult mai frecvent la tumorile lipsite de receptori estrogenici comparativ cu cele care au fost ER pozitive (48,72% vs 27,11% din cazuri au avut un index de proliferare înalt). De asemenea, tumorile progesteron negative au avut o activitate proliferativă determinată cu ajutorul Ki 67, mai mare comparativ cu tumorile progesteron pozitive (38,88% vs 30,64% din cazuri au avut un index Ki 67 înalt).

Un index proliferativ crescut a fost prezent în majoritatea tumorilor cu scor HER 2 2+ și 3+ . Astfel, 93,34% din tumorile HER 2 pozitive au avut activitate proliferativă de peste 15%, comparativ cu doar 6,66% tumori cu activitate proliferativă sub 15%. Diferențele au fost mai puțin semnificative în cazul tumorilor HER 2 negative, în care 79,52% au avut index Ki 67 înalt și 20,48% au avut index Ki 67 scăzut. Ca urmare, un index Ki 67 înalt s-a observat mai frecvent la tumorile HER 2 pozitive comparativ cu cele HER 2 negative (93,34% vs 79,52%). Indexul Ki 67 a fost corelat în acest studiu și cu imunoexpresia oncoproteinei p53 (vezi mai jos).

Analiza imunomarcajului pentru p53 a identificat prezența supraexpresiei proteinei p53 (peste 10% celule tumorale marcate cu acest anticorp) în 42 de cazuri (42% din cazurile studiate).

Tumorile cu supraexpresia p53 au fost mai frecvent întâlnite la pacientele sub 50 de ani (23 de cazuri, respectiv 54,76%) față de cele peste 50 de ani (19 cazuri, respectiv 45,24%).

Tumorile p53 pozitive au fost mai frecvent tumori cu dimensiuni peste 2 cm. Astfel, 28 de tumori dintre tumorile p53 pozitive (reprezentând 66,64% din grupul cu supraexpresia p53) au avut dimensiuni peste 2 cm, în timp ce doar 14 dintre tumorile p53 pozitive (reprezentând 33,33% din grupul cu supraexpresia p53) au avut dimensiuni mai mici de 2 cm.

Carcinoamele de tip ductal invaziv au fost pozitive la p53 în 40 de cazuri, reprezentând 44,44% din totalitatea cazurilor ductal invaziv, iar cele de tip lobular invaziv în doar 2 cazuri, reprezentând 20% din totalitatea cazurilor de carcinom mamar de tip lobular invaziv. Astfel, supraexpresia p53 a interesat cu mult mai rar carcinoamele de tip lobular invaziv (4,76%) decât pe cele de tip ductal invaziv (95,24%).

În ceea ce privește gradul histologic, majoritatea cazurilor cu supraexpresia proteinei p53 (30 de cazuri, respectiv 71,43%) au fost de grad înalt (G3) și doar 12 cazuri (28,57%)

au avut grad histologic scăzut (G1 și G2). Astfel, 75% din carcinoamele de grad înalt au supraexprimat proteina p53, în timp ce doar 20% din cele de grad scăzut (G2/G3) au avut această caracteristică.

Asocierea supraexpresiei p53 (p53 peste 10%) cu supraexpresia HER2 (scor 2+ sau 3+) a fost întâlnită la 7 pacienți. Astfel, coexpresia p53 și HER 2 a fost întâlnită în 7% din cazurile de carcinom mamar invaziv incluse în acest studiu.

Ca urmare 16,66% din cazurile cu p53 pozitiv au prezentat pozitivitate asociată pentru HER2. Dintre aceste cazuri cu coexpresia p53 și HER 2, majoritatea (5 cazuri reprezentând 71,42%) au avut un indice de proliferare celulară de peste 30%.

Supraexpresia imunohistochimică a p53 a fost astfel întâlnită în 46,66% din cele 15 cazuri HER2 pozitive (scor 2+ și 3+) și doar în 35 de cazuri (41,17%) dintre cele 85 de cazuri HER2 negative (scor 0 și 1+). Supraexpresia p53 (corespunzând unei cantități crescute de proteină p53 determinată IHC) a fost mai frecventă la carcinoamele mamare HER2 pozitive comparativ cu cele HER2 negative (46,66% vs 41,17%).

Majoritatea cazurilor care au fost p53 pozitive au avut o activitate proliferativă crescută determinată cu Ki 67. Astfel, 76,19% (32 de cazuri) din cazurile p53 pozitive au avut un index de proliferare peste 15%, și doar 54,76% din cazuri (23 de cazuri) au avut un indice de proliferare de peste 30%.

IV. DISCUȚIA REZULTATELOR

Studiul clinic a fost efectuat pe o perioadă de 10 ani, 1996-2005 și a inclus 562 de pacienți cu cancer mamar.

Raportul barbatifemei A fost de 1,01/98,9 cancerul mamar fiind prezent doar la 6 (1,08%) pacienți bărbați din lotul de 562 de pacienți.

Cancerul sânelui este relativ neobișnuit la bărbați; raportul F/B este de aproximativ 100/1. El justifică mai puțin de 1% din toate cauzele de cancer de la bărbați și s-a estimat că în 2005 vor muri de cancer al sânelui 460 de bărbați (*Lori Jardines 2005*)

În SUA pentru perioada 1998-2002 incidența pentru ambele sexe și pentru toate vârstele a fost de 74,7 la 100.000, la bărbați de 1,2 la 100.000 de locuitori, iar la femeile de 137,1 la 100000 de loc (*Ries Lag 2005*).

Varsta Incidența maximă a cancerului mamar a fost la grupa de vârstă 50-59 ani și a inclus 158 de paciente (28,11%). Vârsta înaintată are un impact enorm pe incidența cancerului de sân. Cu cât vârsta este mai înaintată cu atât este mai mare riscul de apariție a cancerului de sân. Motivul acestei realități izbitoare nu este pe deplin clar, dar pare să fie legat de necesitatea unor mutații somatice multiple (teoria evenimentelor multiple) pentru genele cancerului de sân. Acest fenomen contribuie probabil la creșterea incidenței cancerului de sân în SUA pe măsură ce populația îmbătrânește (*Linnea I Chap 2000*).

Tipuri histologice Allen S. Lichter într-un studiu pe 247 de paciente a constatat următoarele caracteristici ale lotului: vârsta medie a fost de 50 ani, 23% din paciente au avut vârsta < de 40 ani, 51% au avut vârsta între 40-59% și 26% au avut vârsta > 60 ani.

Edward Obedian într-un studiu pe 1029 de paciente cu cancer al sânelui a relevat vârsta > de 50 ani la 67,9% și < de 50 ani la 32,1%, vârsta > de 36 ani la 92,8% și < de 36 ani la 7,2% (*Edward Obedian 2000*). Coral A. Quiet într-un studiu pe 826 de paciente cu ganglioni negativi a constatat că vârsta a fost astfel distribuită: <30 ani în 2%, 31-50 ani la 36%, 51-54 ani la 12%, >55 ani la 50%. Richard P. McQuellon într-un studiu pe 115 paciente a evidențiat o vârstă medie de 57 ani cu limite între 32 -77 ani.

Grading histologic Repartiția tumorilor în funcție de gradul histologic a fost următoarea: grading histologic G1 la 22% din cazuri; grading histologic G2 la 50% din cazuri; grading histologic G3 la 23% din cazuri.

Gradingul histologic se bazează de obicei pe criteriile stabilite de Bloom.

Acestea includ formarea tubulilor, mitozele și caracteristicile nucleare (mărime, forma și hiperromatism). Supraviețuirea a fost legată de diferențierea histologica: gradul 1, bine diferențiat, gradul 2 moderat diferențiat și gradul 3 prost (slab)diferențiat. Supraviețuirea la 5 ani și 20 ani a fost pentru Gradul 1, 81% și 41%, pentru Gradul 2, 54% și 29% și pentru Gradul 3, 34% și 21%.

Gradingul nuclear evaluează condiția numai a nucleului, eliminând diferențele datorită fragilității citoplasmei. *Black et all* a divizat gradele nucleare în trei grupe și le-a numărat în ordine inversă gradingului histologic: grad nuclear 1, anaplazia, grad nuclear 2, diferențiere intermediară și grad nuclear 3, bine diferențiat.

Ei au arătat că gradingul nuclear este o variabilă independentă care se corelează cu prognosticul: 85% din pacienții care au decedat în primul an au avut anaplazie nucleară (NG1), în timp ce numai 34% din cei care au trăit 5 ani au avut anaplazie nucleară.

Tumorile clasificate cu Gradul 1 au fost asociate cu rate de supraviețuire mai mari și cele asociate cu Gradul 4 au fost asociate cu o evoluție proastă. Pentru toate stadiile gradarea histologică a stratificat pacientele în subgrupe prognostice diferite. Pentru toate stadiile ratele de supraviețuire au scăzut cu avansarea gradului histologic dar nu existat nicio diferență între gradul 3 și gradul 4.

Stadializarea TNM A fost posibilă la 94,66% din cazuri, iar la 5,93% din pacienți stadiul a fost necunoscut. Repartiția pe stadii TNM a fost următoarea: stadiul I a fost stabilit la 18 cazuri (3,2%), stadiul II la 177 cazuri (31,49%), stadiul III la 275 de cazuri (48,93%), stadiul IV a fost diagnosticat la 62 de cazuri (11,03%), stadiul a fost necunoscut la 5,93% din pacienți.

În SUA în perioada 1995-2001 boala localizată (stadiul I și II) a fost diagnosticată la 63,7% din paciente, boala regională (stadiul III) la 27,9%, boala metastatică la 5,6% și boala nestadializată la 2,8% (*Breast cancer Fact and figures 2005-2006*).

Pe un lot mare de 107.748 de pacienți (în perioada 1995-2002) distribuția stadiilor a fost următoarea: boala localizată (std I și std II) la 63%, boala regională (III) la 29%, boala la distanță (std IV) la 6%, boala nestadializată la 2% (*Ries LAG, 2007*).

Metastazele Au fost prezente la 110 pacienți, fie de la început ca stadiul IV de boala, la 62 de paciente (56,36%), fie au apărut ulterior în cursul evoluției bolii la 50 de paciente (45,45%).

Sediul metastazelor a fost : metataze osoase la 61 de pacienți (55,45%), metastaze hepatice la 28 de pacienți (25,45%), metastaze pleurale la 20 de pacienți (18,18%), metastaze pulmonare la 19 pacienți (17,27%), metastaze ganglionare la 14 pacienți (12,72%), metastaze cerebrale la 9 pacienți (8,18%), metastaze peritoneale la 9 pacienți (8,18%), metastaze cutanate la 6 pacienți (5,45%), metastaze percardice la 3 pacienți (2,72%).

Pe un lot de 45.169 de paciente cu carcinom ductal invaziv (ICD), în evidența Breast Center at Baylor College of Medicine, metastazele au apărut la 2576 de paciente (5,7%): metastaze osoase 35,5%, cutanate 28%, ganglionare 22%, pulmonare/pleurale 17,6%, cerebrale 5,3%, hepatice 10,9% (*Grazia Arpino et all,2004*).

Supraviețuirea Supraviețuirea la 5 ani pentru toate stadiile a fost de 50,43%.

Supraviețuirea pe stadii

Supraviețuirea la 5 ani în cancerul mamar repartizat pe stadii a fost următoarea: pentru stadiul I a fost de 90,90%, pentru stadiul II de 75,28%, pentru stadiul III de 43,42%, iar pentru stadiul IV a fost de 19,56%.

Supraviețuirea la 5 ani la întreg lotul studiat (353 cazuri) a fost de 49,85%.

În SUA supraviețuirea la 5 ani în perioada 1995-2002 a fost în funcție de stadiu următoarea: pentru toate stadiile a fost de 88,2%, pentru boala localizată (stadiu I și II) a fost de 97,9%, pentru boala regională (III) a fost de 81,3%, pentru boala metastatică a fost de 26,1%, pentru boala nestadializată a fost de 55,6% (*Ries Lag, 2007*).

Studiu histologic

Studiul actual a inclus 562 cazuri de carcinom mamar invaziv, diagnosticate într-o perioadă de timp de 10 ani, 1996-2005. Încadrarea acestor carcinoame invazive în diversele tipuri conform criteriilor OMS a demonstrat că un număr covârșitor de cazuri (385 cazuri, respectiv 68,51%) a fost reprezentat de carcinomul ductal invaziv de tip NOS, aceste cazuri fiind urmate de carcinomul lobular invaziv care a fost diagnosticat în 84 de cazuri, reprezentând 14,94% din totalitatea cazurilor de carcinom mamar infiltrativ luate în studiu. Carcinoamele mixte ducto-lobulare au fost diagnosticate la 29 de pacienți, reprezentând 5,16% din cazurile analizate. În ordinea frecvenței au fost diagnosticate 18 cazuri de carcinom tubular (3,2%), 12 cazuri de carcinom cribriform invaziv (2,13%), 11 cazuri de carcinom mucinos (1,96%), 7 cazuri de carcinom invaziv micropapilar (1,25%), 6 cazuri de carcinom medular (1,07%), 5 cazuri de carcinom cu celule bogate în glicogen (0,89%), 4 cazuri de carcinom scuamos pur (0,71%) și un singur caz de carcinom mamar adenoid-chistic (0,17%). Rezultatele obținute privind frecvența tipurilor de carcinoame mamare în lotul studiat sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate (vezi mai jos).

Carcinomul mamar invaziv de tip ductal NOS

Este cel mai frecvent carcinom invaziv mamar, el reprezentând între 40% și 75% din carcinoamele mamare invazive. Prin definiție diagnosticul carcinomului ductal NOS este un diagnostic de excludere, acest carcinom fiind o tumoră epitelială malignă care nu poate fi clasificată în niciunul din tipurile speciale de carcinom mamar invaziv (*Moinfair F, 2007*).

Studiul actual a permis încadrarea a 68,51% din cazurile de carcinom mamar invaziv în categoria carcinoamelor ductale invazive NOS. Dintre acestea 300 de cazuri (77,92% din cazuri) au avut o componentă asociată de carcinom in situ. În peste 80% din cazurile de carcinom invaziv ductal NOS sunt prezente focare asociate de carcinom ductal in situ (*Ellis IO și col, 2003*) și doar o mică proporție de carcinoame ductale NOS asociază focare de carcinom lobular in situ, fără a prezenta arii de carcinom ductal in situ (*Moinfair F, 2007*).

Pentru gradarea histologică a tumorilor ductale NOS s-a utilizat în lucrarea de față scorul Nottingham (grading histologic), cel mai larg utilizat deși unii autori preferă scorul grading-ului nuclear care se bazează pe evaluarea aspectelor nucleilor tumorali. Conform scorului Nottingham carcinoamele ductale NOS au fost clasificate în: carcinoame NOS G1 (58 de cazuri – 15,06%), carcinoame NOS G2 (173 de cazuri – 44,94%) și carcinoame NOS G3 (154 de cazuri – 40%). Separarea carcinoamelor mamare în cele 3 grade histologice este arbitrară și artificială, deoarece aceste tumori prezintă de fapt o scală continuă de malignitate (*Moinfair F, 2007*).

Carcinomul lobular A fost introdus pentru prima dată de către Foote și Stewart în 1941, care au propus carcinomul lobular ca entitate de sine stătătoare ca tip de carcinom mamar (*Foote F, Stewart F, 1941*). Carcinomul lobular invaziv reprezintă doar 3-5% din totalitatea carcinoamelor invazive mamare atunci când diagnosticarea lui se face strict pe criteriile lui Foote și Stewart. Totuși, astăzi carcinomul invaziv lobular este cel mai frecvent tip de carcinom mamar invaziv după carcinomul ductal invaziv, reprezentând 5-15% din totalitatea carcinoamelor mamare în Europa și Statele Unite, în timp ce în Japonia acest tip

de carcinom reprezintă doar 1-4% din totalitatea cancerelor mamare (*Hanagiri T și col., 2009*). Subtipul clasic de carcinom lobular infiltrativ deține aproximativ 40% din totalul carcinoamelor infiltrative lobulare (*Ellis IO și col., 1992*).

Subtipul solid de carcinom lobular infiltrativ constituie aproximativ 10% din carcinoamele lobulare (*Ellis IO și col., 1992*), rezultate similare având și în studiul actual, în care tipul solid de carcinom lobular a fost diagnosticat în 10,71% din cazurile cu carcinom lobular infiltrativ. Uneori carcinomul lobular invaziv prezintă un patern de creștere solid – celulele maligne cresc în plaje solide, substituind structurile normale și infiltrând țesutul adipos, într-un patern de creștere similar celui dintr-un limfom malign (*Ellis IO și col., 1992*).

Subtipul alveolar de carcinom lobular invaziv reprezintă un patern rar, proporția acestor tumori fiind de 4-5% din carcinoamele lobulare invazive (*Ellis IO și col., 1992*).

Conform scorului Nottingham carcinoamele lobulare invazive au fost clasificate în: carcinoame G1 (16 cazuri- 19,04%), carcinoame G2 (51 de cazuri - 60,71%) și carcinoame G3 (17 cazuri – 20,23%). Rezultate similare au fost obținute de specialiști și publicate în studii recente. Astfel, folosind criteriile scorului Nottingham, *Bane AL, Tjan S și col., 2005* au încadrat carcinoamele lobulare invazive în: grad 1- 20% din cazuri, grad 2 - 66% din cazuri și grad 3 - 14% din cazuri și au arătat că gradul histologic al carcinoamelor lobulare invazive, deși sunt carcinoame rare, se corelează cu dimensiunile tumorii, statusul limfocitelor, dar nu se corelează cu expresia receptorilor hormonal, E-caderinei sau cu supraexpresia HER 2.

De obicei carcinoamele lobulare exprimă receptori pentru estrogeni și progesteron și nu prezintă supraexpresia proteinei și nici amplificarea genei HER 2 *neu* (*Orvieto E și col., 2008*).

Prognosticul carcinoamelor lobulare este încă controversat. Cele mai multe studii susțin faptul că prognosticul carcinoamelor lobulare invazive este similar cu cel al carcinoamelor ductale invazive de același stadiu și grad (*Molland JG și col., 2004*). Alți autori susțin un prognostic mai bun (*Toikkanen S și col., 1997*) sau mai prost (*Bakha EA și col., 2008*) decât al carcinoamelor ductale invazive.

Studiu imunohistochimic

Receptorii hormonal Deoarece receptorii hormonal reprezintă factori predictivi bine cunoscuți ai răspunsului la terapia hormonală în cancerul mamar, evaluarea lor prin metodele actuale imunohistochimice este absolut necesară.

În acest studiu 61% din carcinoamele mamare invazive au prezentat receptori estrogenici, iar receptorii progesteronici au fost detectați în 64% din cazuri, aceasta fiind în concordanță cu datele recente din literatură care consemnează prezența ER la 63% dintre pacientele cu carcinom mamar invaziv și a PR la 65% dintre acestea (*Zhou Bo et al., 2008*).

Ambele tipuri de receptori au avut, în majoritatea cazurilor, un marcaj heterogen. Carcinoamele lobulare analizate au exprimat ER într-o proporție mai mare de cazuri decât carcinoamele ductale (80% vs. 58,88%). În conformitate cu observațiile din literatură, în jur de 70-95% din carcinoamele lobulare sunt ER pozitive, rata fiind mai mare decât cea de 70-80% observată în carcinoamele ductale invazive, iar pozitivitatea la progesteron este de 60-70% în ambele tipuri histologice (*Zafrani B et al, 2000*).

Majoritatea carcinoamelor mamare au exprimat ambele tipuri de receptori hormonal având un fenotip ER+/PR+ (57% din cazuri), fiind urmate ca frecvență de tumorile cu receptori hormonal absenți și fenotip ER-/PR- (32% din cazuri). Studiile de specialitate citează că aproximativ 50% din carcinoamele mamare invazive exprimă

ambele tipuri de receptori hormanali, iar aproximativ 25% sunt lipsite de receptori estrogenici și progesteronici (*Bardou VJ et al., 2003*).

În studiul de față fenotipul ER+/PR- a fost detectat la 4% din tumori. Așa cum am observat în lucrarea de față, cazurile ER+/ PR - au avut valori destul de reduse ale scorului Allred pentru estrogeni (sub 6), rezultatele fiind similare cu cele ale specialiștilor ce au detectat nivelul receptorilor estrogenici la aceste fenotipuri utilizând metode diferite (dextran coated charcoal-DCC). Astfel, nivelul mediu al receptorilor estrogenici în tumorile ER+/PR- este doar aproximativ jumătate din cel al tumorilor ER+/PR+ (*Arpino G și col., 2005*).

Proteina Her 2 Produsul codificat de gena HER2 este o proteină transmembranară de aproximativ 185 kD ce funcționează ca receptor tirozinkinazic, denumită proteina HER-2, p185 sau c-erbB-2. HER2 este implicată în diferențiere, proliferare, adeziune și motilitate celulară (*Qualino E, 2004*), ocupînd o poziție cheie la nivelul cascadei de transducție a semnalului mitogen atât în cazul celulelor normale, cât și în cazul celor tumorale. Proteina HER2 este similară structural cu membrii familiei EGFR/HER din care fac parte HER-1 (EGFR), HER-2, HER-3 și HER-4. Prognosticul carcinoamelor mamare este în legătură cu o serie de factori clinici și patologici. Astfel, pe lângă receptori hormonal, HER2 reprezintă cel mai acceptat factor prognostic și predictiv al răspunsului sau rezistenței la tratament și la potențialul utilizării unor tratamente noi (Herceptin) (*Ayadi L et al., 2008*).

În acest studiu 15% din tumorile lotului analizat au fost pozitive la HER2, dintre care doar 5% din cazuri au supraexprimat proteina HER2 cu intensitate maximă (scor 3+). Supraexpresia receptorului HER2 a fost raportată în 10-34% din cazurile de carcinom mamar, iar această caracteristică se asociază cu un prognostic nefavorabil (*Ayadi L et al., 2008*). Rata supraexpresiei cu intensitate maximă a proteinei HER 2 a fost mai scăzută în lotul studiat probabil datorită faptului că tumorile slab diferențiate (de grad G3) au fost mult mai puține (40%) comparativ cu cele bine și moderat diferențiate (60%). Acest fapt susține ipoteza că tumorile mamare mai puțin agresive au o rată mai redusă a supraexpresiei HER2 și sugerează asocierea dintre expresia HER2 în tumoră și gradul malignității sale.

În studiul de față tumorile HER2 pozitive au aparținut ușor mai frecvent pacientelor sub 50 de ani (8 cazuri, respectiv 53,33%) față de cele peste 50 de ani (7 cazuri, respectiv 46,67%), fără diferențe semnificative, deși unii autori au sugerat faptul că supraexpresia HER2 se asociază cu vârsta tânără (*Seo BK et al., 2006*). Rezultatele de față sunt în concordanță cu cele ale autorilor care au arătat că nu există asocieri semnificative între supraexpresia HER2 și vârsta pacientelor (*Ayadi L et al., 2008*).

Tumorile HER2 pozitive au fost mai frecvent tumori cu dimensiuni peste 2 cm. Astfel, 8 tumori cu dimensiuni peste 2 cm (reprezentând 53,33%) au fost HER2 pozitive, în timp ce 7 tumori mai mici de 2 cm (reprezentând 46,67%) au fost HER2 negative. Diverse studii nu au găsit o asociere între supraexpresia HER 2 și dimensiunile tumorilor mamare analizate (*Ryden L et al., 2007*).

Similar, grupul tumorilor mai mici de 2 cm au tins să aibă o rată mai mare a pozitivității HER2 comparativ cu grupul (fracțiunea) tumorilor peste 2 cm (22,85% vs 10,77%), rezultatele fiind concordante cu cele ale lui Al-Dujaily E și colaboratorii, publicate în 2008 (100% vs 66,66%) și în oarecare discordanță cu cele ale lui L Ayadi și colaboratorii, 2008 (doar 15,3% din tumorile sub 5 cm și 27% din tumorile peste 5 cm supraexprimă HER 2).

Corelând imunomarcajul tumorilor la HER2 cu tipul lor histologic s-a observat că un singur caz de carcinom de tip lobular histiocitoid (10% din carcinoamele lobulare au fost HER2 pozitive) a fost pozitiv moderat la HER 2 (scor 2+). Toate celelalte 14 cazuri

HER 2 pozitive au fost de tip ductal (9 cazuri cu scor 2+ și 5 cazuri cu scor 3+). Astfel, 15,55% din carcinoamele mamare ductale invazive studiate au fost HER 2 pozitive. Deși multe studii nu au găsit corelații semnificative între supraexpresia HER 2 și tipul histologic al carcinoamelor mamare (Ayadi L et al., 2008), rapoarte recente sugerează că supraexpresia HER 2 este semnificativ mai frecventă în carcinoamele ductale decât în cele lobulare (Boussen H et al., 2008).

Similar, tumorile HER2 pozitive au fost de tip lobular în procent de 6,66% și de tip ductal în procent de 93,34% din cazuri. În ceea ce privește gradul histologic, majoritatea cazurilor HER2 pozitive (12 cazuri, respectiv 80%) au fost de grad înalt (G3) și doar 3 cazuri (reprezentând 20%) au avut grad histologic scăzut (G1 și G2). Astfel, toate cele 14 cazuri de grad histologic G1 au fost HER 2 negative, cazurile cu grad histologic G2 au fost pozitive în proporție de doar 6,52% (3 cazuri), în timp ce tumorile de grad histologic G3 au fost pozitive în proporție de 30% din cazuri (12 cazuri). Rezultatele au fost similare cu cele ale lui Sughayer M și colaboratorii apărute în 2006: toate cazurile de carcinom ductal invaziv de grad histologic 1 au fost HER 2 negative, în timp ce 14% din cele de grad 2 și 19,8% din cele de grad 3 au fost HER 2 pozitive. Multe studii au corelat supraexpresia HER 2 cu gradul slab de diferențiere al carcinoamelor mamare (Al-Dujaily E et al., 2008), în timp ce alte studii nu au găsit nicio astfel de corelație (Ayadi L et al., 2008).

Fenotipul hormonal al tumorilor analizate în acest studiu a fost corelat cu statusul proteinei HER 2 și s-a remarcat faptul că dintre cele 15 de cazuri de carcinom mamar invaziv care au fost pozitive la imunomarcajul cu HER2, 8 cazuri (53,33%) au fost lipsite de expresia receptorilor pentru estrogeni și progesteron, iar 7 cazuri (46,67%) au exprimat acești receptori. Răspunsul pacienților cu cancer mamar la terapia endocrină este ghidat de expresia a doi receptori ai hormonilor steroizi: estrogen receptor α și/sau progesterone receptor. Expresia acestor markeri predictivi este detectată imunohistochimic pe piesele de biopsie sau de exereză chirurgicală. În ultimul timp determinarea expresiei oncoproteinei HER 2 oferă informații predictive legate de răspunsul la imunoterapia anti-HER 2. Co-expreia ER și HER 2 este un fenomen destul de rar întâlnit în carcinoamele mamare (în studiul de față 7 cazuri cu HER 2 slab pozitiv au co-exprimit și ER, dar nu am găsit niciun caz HER 2 intens pozitiv care să asocieze imunoexpresia ER). Procentul de cazuri cu supraexpresia HER2 (3+) a fost mult mai mic în tumorile ER pozitive: 0%, comparativ cu 12,89% în tumorile ER negative.

Deși, această co-expresie este un fenomen infrecvent, studiile actuale au arătat că pacienții cu un astfel de fenotip (ER+/HER 2+) au o rată de supraviețuire mai scurtă (DFS și OS reduce) (Ciocca D et al., 2006).

În lotul studiat, co-expresia HER 2 cu cea a ER a fost întâlnită în doar 10,52% din cazurile de tumori mamare cu fenotip ER+/PR+ și în 25% din tumorile mamare cu fenotip ER+/PR-. Supraexpresia/amplificarea genei HER2 în cancerul mamar determină apariția rezistenței la terapia antiestrogenică cu tamoxifen și sensibilitate crescută la cea cu antraciline și taxani (Dixon JM et al., 2004). Trebuie menționat aici faptul că prezența receptorilor hormonală la pacientele HER, pozitive nu afectează beneficiile terapiei cu transtuzumab (Brufsky A et al., 2005).

Ki-67 a fost introdus în studiile de imunohistochimie încă din anul 1983, dar inițial anticorpii care detectau acest antigen nu puteau fi folosiți decât pe secțiuni la gheață.

Antigenul Ki-67 este o proteină non-histică utilă pentru identificarea celulelor proliferative care, neavând specificitate de fază, este exprimat în toate fazele active ale ciclului celular (Ki-67 nu este exprimat în faza G₀) (Keating JT et al., 2001).

Deși la ora actuală există mai mulți anticorpi ce pot fi utilizați pe secțiunile efectuate la parafină (MM1, NCL-ki-67p, Rah Ki-67), studiile arată că, totuși, anticorpii MIB-1 are cea mai mare sensibilitate, oferind cea mai bună colorare vizuală, reproductibilitatea indexului de colorare fiind însă la fel de bună pentru oricare dintre acești anticorpi (*Lindboe CF, Torp SH et al., 2002*).

Distribuția sa prin metode imunohistochimice este limitată la apariția sa în faza G₁ tardivă. De aceea, Ki-67 este recunoscut ca fiind un indicator al activității mitotice celulare. O creștere a expresiei Ki-67 indică o creștere a activității mitotice celulare și a proliferării (*Taylor RJ et al., 2003*).

Am completat studiul proliferării celulare cu acest anticorp tocmai deoarece el este un marker mai fidel al activității mitotice și nu se exprimă în celule în cazul în care au loc reparări ale ADN-ului (cum se întâmplă în cazul altui marker de proliferare celulară: PCNA).

Expresia imunohistochimică a lui Ki 67 are o bună corelare cu fracția de creștere în diverse modele și nu pare să se exprime în timpul procesului de reparare a ADN-ului (*Tan PH et al., 2005*). În cancerul mamar Ki67 este utilizat pentru a stratifica pacienții în categorii cu prognostic favorabil și nefavorabil și a fost raportat că se corelează cu răspunsul clinic la chimioterapie (*Petit T et al., 2004*). Totuși, nu a fost universal stabilită valoarea optimă a cut-off-ului care face distincția dintre activitatea proliferativă înaltă și cea scăzută într-o manieră clinic relevantă (atunci când aceasta este determinată IHC) în cancerul mamar. De asemenea, nu este suficient studiată relația dintre expresia proteinei Ki 67 determinată IHC și profilul expresiei genice a acestei proteine (*Spyratos F et al., 2002*).

Imunomarcajul la Ki 67 este de obicei localizat nuclear. În studiul de față Ki 67 a fost localizat nuclear în majoritatea covârșitoare a cazurilor (98%), dar în 2% din cazuri a fost întâlnit un marcaj citoplasmatic/membranar. Mecanismul apariției imunoreactivității membranare/citoplasmatică la Ki 67 este. Studiile care au găsit corelații ale activității proliferative celulare (determinate cu ajutorul indexului imunohistochimic Ki 67) cu vârsta pacientelor au arătat că pacientele mai tinere au tumori cu o activitate proliferativă mai mare comparativ cu pacientele peste 40 de ani ($p=0,009$) și că tumorile aparținând pacientelor sub 50 de ani au un procent al KI 67 mai mare comparativ cu tumorile pacientelor peste 50 de ani ($p=0,01$). Aceste rezultate sunt similare cu cele ale studiului de față în care s-a constatat că pacientele cu vârsta sub 50 de ani au avut mai frecvent un index Ki67 înalt (peste 15% din celulele tumorale fiind pozitive la Ki 67) comparativ cu pacientele peste 50 de ani (60% din cazuri vs 55,55%).

În studiul actual pacientele cu tumori mai mari de 2 cm au avut mai frecvent un index Ki 67 înalt comparativ cu cele cu tumori sub 2 cm (71,42% vs 51,43%), similar indexul MIB I s-a corelat direct cu dimensiunile tumorilor în studiile amintite mai sus.

În ceea ce privește tipul histologic al carcinoamelor analizate s-a constatat că tipul lobular a avut un index Ki 67 scăzut în toate cazurile (100% din cazuri), în timp ce tipul ductal invaziv a avut un index Ki 67 scăzut în 43,87% din cazuri și un index înalt în 56,12% din cazuri. Studiile de specialitate au demonstrat că 41,8% din carcinoamele ductale și doar 21,3% din cele lobulare mamară au un index de proliferare ridicat. Diferențele care apar în rata cazurilor cu index crescut se datorează faptului că în studiul de față am considerat că indexul Ki 67 este ridicat dacă peste 15% celulele tumorale sunt marcate, iar studiul citat a considerat un index Ki 67 ridicat când peste 13% din celulele tumorale sunt marcate.

Raportat la gradul histologic, tumorile de grad înalt (G3) au avut întotdeauna un index Ki 67 înalt, comparativ cu tumorile de grad scăzut (G1/G2) care au avut un index de proliferare crescut în doar 8,62% din cazuri. Toate studiile care au raportat corelații ale indexului KI 67 cu gradul histologic al tumorilor au arătat că tumorile cu grad histologic

înalț au o activitate proliferativă crescută comparativ cu cele de grad scăzut (*Ding SL et al., 2004*) chiar și independent de statusul ganglionilor axilari (ca în studiul lui *Trihia H et al., 2003*)

O activitate proliferativă crescută (un index Ki 67 înalț) s-a observat mult mai frecvent la tumorile lipsite de receptori estrogenici sau progesteronici comparativ cu cele care au fost pozitive la ER și PR (48,72% vs 27,11% și 38,88% vs 30,64%). O corelație inversă între activitatea proliferativă și statusul receptorilor hormonalni este citată de toate articolele de specialitate care au analizat acest aspect în special la cazurile cu ganglioni axilari pozitivi. Se pare că activitatea proliferativă crescută (Ki 67 peste 20%) și absența receptorilor hormonalni sunt factori înalț predictivi pentru CR (complete response) clinic și patologic la chimioterapia neoadjuvantă bazată pe antracicline (*Petit T et al., 2004*).

În acest studiu un index Ki 67 înalț s-a observat mai frecvent la tumorile HER 2 pozitive comparativ cu cele HER 2 negative (93,34% vs 79,52%). Toate studiile autorilor de specialitate au găsit o corelație directă între indexul Ki 67 detectat imunohistochimic și supraexpresia proteinei HER 2 neu (*Trihia H et al., 2003*).

Unele studii susțin rolul indexului Ki 67 în ghidarea tratamentului carcinoamelor mamare și în prognosticul supraviețuirii fără boală și a supraviețuirii generale.

Oncoproteina p53 Este o fosfoproteină de 53 Kd, codificată de gena p53 localizată pe brațul scurt al cromozomului 17. În condiții normale, gena p53 are rol de „gardian al genomului”, adică de monitorizare a integrității ADN-ului în timpul diviziunii celulare. Produsul proteic al alelelor normale (wild-type) ale genei p53 reglează negativ creșterea și proliferarea celulară, blocând celulele în faza G₁ a ciclului celular. Pierderea și (sau) alterarea proteinei p53, ca urmare a rearanjamentelor genei, poate determina dereglarea creșterii celulare prin erori de replicare și acumulări genetice. Dacă ADN-ul este alterat, p53 blochează replicarea, favorizând activarea sistemelor reparatoare ale genomului. Când repararea celulei nu reușește, p53 induce autodistrugerea celulei prin apoptoză.

Metodele imunohistochimice se bazează pe acumularea proteinei p53 în celule. Tipul wild al p53 se poate acumula inclusiv în hipoxii celulare sau alterări ale ADN-ului. În plus, nu toate mutațiile aberante ale p53 determină acumulări ale p53, ele putând fi cauză de rezultate fals negative (*Bostwich DG et al., 2002*). O creștere a concentrației intracelulare a p53, care este frecvent, dar nu sistematic, asociată cu mutația proteinei p53, se pare că este însoțită de un prognostic prost în unele tumori și un răspuns slab la tratament și rezistență la radioterapie (*Houlston RS, 2001*).

Detectarea imunohistochimică a proteinei p53 se poate realiza la ora actuală cu mai mulți anticorpi, cei mai utilizați fiind CM1, PAb1801, DO1 și DO7.

Anticorpol monoclonal utilizat în acest studiu recunoaște atât tipul wild, cât și tipul mutant al proteinei p53, legându-se de un epitop rezistent la denaturare, localizat în extremitatea N-terminală a proteinei.

Mutațiile p53 rămân cele mai frecvente modificări identificate în neoplaziile umane. În cancerul mamar, mutațiile p53 se asociază cu un comportament mai agresiv și cu o rată de supraviețuire mai redusă. Totuși frecvența mutațiilor p53 este mai scăzută în cancerul mamar comparativ cu alte tumori solide (*Gasco M et al., 2002*).

În studiul de față supraexpresia proteinei p53 a fost întâlnită în 42% din cazurile de carcinom mamar studiate, rezultat bine corelat cu datele publicate în literatura de specialitate care variază între 16% și 48% de cazuri pozitive la p53 în carcinoamele mamare invazive (*Al-Moundhri et al., 2003*). Totuși, acumularea (supraexpresia) proteinei p 53, determinată imunohistochimic, nu reflectă exact apariția mutațiilor genei p53 având în vedere că anticorpii existenți determină atât tipul wild cât și cel mutant al p53, acest tip wild putându-se acumula în unele tumori ca răspuns al alterărilor ADN-ului. Pe de altă

parte, nu toate mutațiile conduc la o proteină p53 stabilă și detectabilă IHC, iar unele mutații conduc la o proteină p53 trunchiată care nu poate fi detectată IHC. Studiile de specialitate au demonstrat o corelație între acumularea proteinei p53 măsurată IHC și mutația p53 detectată prin secvențiere genică, estimată la sub 75% în carcinoamele mamare. Analizând supraexpresia proteinei p53 la cazurile incluse în acest studiu am constatat că aceasta a fost mai frecventă la paciente sub 50 de ani comparativ cu cele peste 50 de ani (54,76% vs. 45,24%), cu tumori mai mari de 2 cm (66,64% vs. 33,33%). De asemenea, în grupul pacientelor sub 50 de ani, supraexpresia p53 a fost mult mai frecvent întâlnită (23 de cazuri, reprezentând 62,16% din pacientele sub 50 de ani) comparativ cu grupul pacientelor peste 50 de ani (19 cazuri, reprezentând 30,15% din pacientele peste 50 de ani).

În ceea ce privește tipul și gradul histologic al carcinoamelor mamare invazive analizate, supraexpresia p53 a fost mult mai frecvent asociată cu tipul ductal invaziv comparativ cu cel lobular (95,24% vs. 4,76%) și cu tumorile slab diferențiate (G3) comparativ cu cele bine/moderat diferențiate (28,57% vs. 71,43%). Aceste rezultate sunt în concordanță cu studiile recente care au demonstrat că tumorile mamare cu o mare cantitate de p53 (măsurată IHC) sunt semnificativ corelate cu gradul histologic și nuclear înalt ($p=0,0001$) (*Al-Moundhri M et al, 2003*) și sunt mult mai rar de tip lobular (*Bull SB et al., 2004*). Imunopozitivitatea p53 s-a corelat cu absența expresiei receptorilor estrogenici și progesteronici (61,9% din cazuri au fost lipsite de expresia receptorilor pentru estrogeni vs. 38,1% cazuri prezentând imunoexpresia receptorilor estrogenici; de asemenea 54,76% din cazuri cu supraexpresia p53 au fost negative pentru PR vs. 45,24% din cazuri pozitive PR. Prezența supraexpresiei proteinei p53 în toate cazurile cu fenotip heterogen, în peste jumătate din cazurile cu ambii receptori hormonal negativi și în doar 21,05% din cazurile cu fenotip ER+/PR+ poate explica prognosticul nefavorabil al carcinoamelor mamare la care lipsește unul sau ambele tipuri de receptori comparativ cu fenotipul dublu pozitiv (ER+/PR+).

Cazurile care prezintă mutații ale p53 sunt tumori moderat sau slab diferențiate, ER și PR negative și prezintă un număr semnificativ de celule MIB 1 pozitive (*Megha T et al, 2001*).

Coexpresia p53 și HER 2 a fost întâlnită în 7% din cazurile de carcinom mamar invaziv incluse în acest studiu. Acest procent reflectă raritatea relativă a acestui dublu defect genetic. Rata cancerelor mamare care coexprimă p53 și HER 2 a fost raportată, în studiile anterioare, ca variind între 7% și 19,5% din totalitatea cancerelor mamare examinate (*Korkolis D et al., 2001*). Studiul lui *Sidoni A și colaboratorii din 2006* a identificat o rată a expresiei imunohistochimice simultane a celor două proteine în 3% din cazuri. Acest studiu a demonstrat că coexpresia p 53 și HER 2 apare la pacientele tinere ce au cancer mamare cu un profil agresiv (sunt slab diferențiate, au ganglioni limfatici pozitivi, sunt prevalenți negativi pentru estrogeni și au o activitate proliferativă ridicată). În studiul de față majoritatea cazurilor cu dublă expresie p53-HER2 (5 cazuri reprezentând 71,42%) au avut un indice de proliferare celulară de peste 30%. Acest rezultat poate susține ipoteza conform căreia expresia alterată a p53 și HER2, deși prezintă mecanisme diferite de apariție, conferă cancerelor mamare o malignitate accentuată prin afectarea mecanismelor inhibitorii ale proliferării celulare.

Supraexpresia p53 a fost ușor mai frecventă la carcinoamele mamare HER2 pozitive comparativ cu cele HER2 negative (46,66% vs 41,17%). Totuși, având în vedere cele menționate mai sus, considerăm că este utilă testarea prezenței mutațiilor p53 la pacientele cu amplificarea HER 2 (chiar și prin metode indirecte cum sunt cele

imunohistochimice) pentru a identifica acel subgrup de paciente care au tumori mai agresive și care ar putea beneficia în viitor de un tratament mai agresiv.

V. CONCLUZII

1. **Studiul clinic statistic** a fost efectuat pe perioadă de 10 ani, 1996-2005 și a inclus 562 de pacienți cu cancer mamar.

2. Raportul bărbați/femei a fost de 1,01/98,9, cancerul mamar fiind prezent doar la 6 pacienți bărbați din lotul de 562 de pacienți.

3. Raportul urban/rural a fost de 1,65, rezidența urbană fiind constatată la 350 de pacienți, ceea ce reprezintă 62,27%, în timp ce 212 pacienți (37,24%) au avut rezidență rurală.

4. Varsta Incidența maximă a cancerului mamar a fost la grupa de vârstă 50-59 ani și a inclus 158 de paciente (28,11%).

5. Localizarea cancerului la nivelul sânelui stîng a fost prezentă la 286 de cazuri (50,88%), la nivelul sânelui drept a fost la 271 de cazuri (48,22%), iar cancerul mamar bilateral a fost prezent la 5 cazuri (0,88%).

6. Tipurile histologice cele mai frecvente au fost: carcinomul ductal invaziv la 90% din paciente, carcinomul lobular invaziv la 4,6%, carcinomul în situ la 0,8%, carcinomul medular la 2% din cazuri, sarcomul la 0,7%, carcinomul scuamo celular la 0,7% și carcinomul metastatic la 0,7%.

7. Gradingul histologic Repartiția tumorilor în funcție de gradingul histologic a fost următoarea: grading histologic G1 la 22%, grading histologic G2 la 50% din cazuri și grading histologic G3 la 23% din cazuri.

8. Stadializarea TNM a fost posibilă la 94,66% din cazuri, iar la 5,93% din pacienți stadiul a fost necunoscut.

Repartiția pe stadii TNM a fost următoarea: stadiul I a fost stabilit la 18 cazuri (3,2%), stadiul II la 177 cazuri (31,49%), stadiul III la 275 de cazuri (48,93%), stadiul IV a fost diagnosticat la 62 de cazuri (11,03%), stadiul a fost necunoscut la 5,93% din pacienți.

9. Metastazele au fost diagnosticate la 62 de cazuri (11,03%). Sediul metastazelor a fost: metastaze osoase la 55,45%, metastaze hepatice la 25,45%, metastaze pleurale la 18,18%, metastaze pulmonare la 17,27%, metastaze ganglionare la 12,72%, metastaze cerebrale la 8,18%, metastaze peritoneale la 8,18%, metastaze percardice la 2,72%.

Numărul sediilor metastatice a fost: 1 singur sediu metastatic la 56,36%, 2 sedii metastatice la 33,63%, 3 sedii metastatice la 9,09% și 4 sedii metastatice la 0,9%.

10. *Supraviețuirea generală la 5 ani* pentru toate stadiile a fost de 50,43%.

Supraviețuirea la 5 ani în cancerul mamar repartizat pe stadii a fost următoarea: pentru stadiul I a fost de 90,90%, pentru stadiul II de 75,28%, pentru stadiul III de 43,42%, iar pentru stadiul IV a fost de 19,56%.

11. **Studiul morfologic al carcinoamelor mamare invazive** a permis evidențierea unei mari varietăți de tipuri histologice între care domina tipul clasic de carcinom ductal invaziv de tip NOS cu 68,51% din cazuri.

12. Separarea netă pe criterii morfologice a carcinoamelor mamare în diversele tipuri histologice a avut o importanță majoră, ea oferind date clare privind evoluția ulterioară a bolii și permitând identificarea tipurilor speciale de carcinom mamar cu un prognostic nefavorabil: metaplazic (4 cazuri), micropapilar (7 cazuri), lobulare pleiomorfe (10 cazuri) dar și a celor cu prognostic favorabil, rată mare de supraviețuire și recurențe reduse: tubular, mucinos, adenoid-chistic, cribriform invaziv, medular.

13. Studiul pe un lot mare de pacienți a permis detectarea unor forme histologice extrem de rare de carcinom mamar cum sunt carcinomul adenoid-chistic, carcinomul scuamos pur, medular și carcinomul cu celule bogate în glicogen.

14. Carcinoamele lobulare invazive au reprezentat cel mai frecvent (14,94% din cazuri) tip de carcinom mamar după carcinomul ductal invaziv tip NOS și s-a prezentat sub o gamă foarte largă de variante (clasic, solid, alveolar, tubulo-lobular, pleiomorf, histiocitoid și cu celule în inel cu pecete). Identificarea carcinoamelor lobulare non-clasice (37 de cazuri) a permis selectarea pacienților cu risc mare de a dezvolta metastaze la distanță și cu o supraviețuire fără boală redusă.

15. Gradarea histologică a carcinoamelor mamare este greu reproductibilă și dificil de realizat, dar a permis evaluarea prognosticului bolnavilor incluși în studiu. A fost identificat un număr mare de pacienți (201 pacienți reprezentând 35,76%) care au prezentat un grad histologic mare (G3) corelat cu un prognostic nefavorabil, comparativ cu pacienții ale căror tumori au fost bine diferențiate (G1, 91 de cazuri, reprezentând 17,08%).

16. **Studiul imunohistochimic** al carcinoamelor mamare invazive a luat în studiu 100 de paciente cu carcinom mamar

17. Detectarea receptorilor hormonalți prin metoda imunohistochimică a permis selectarea pacientelor cu receptori pozitivi, singurul subgrup care beneficiază de terapia cu tamoxifen.

18. Evaluarea corelată a imunoexpresiei receptorilor pentru estrogen și progesteron îmbunătățește valoarea predictivă a acestora prin identificarea tumorilor cu fenotip heterogen.

19. Comparativ cu fenotipul clasic ER+/PR+, un subgrup distinct de carcinoame mamare invazive este cel cu fenotip ER+/PR-, acesta fiind mai frecvent la pacientele peste 50 de ani care au avut tumori mai mari de 2 cm, de tip carcinom ductal invaziv.

21. Detectarea pacientelor cu tumori cu fenotip ER+/PR- a permis selectarea cazurilor cu caracteristici clinice și biologice agresive, care vor avea un răspuns scăzut la terapia hormonală, aceste cazuri având constant și un nivel scăzut al ER prezenți (scor sub 6).

22. Grupul pacientelor cu vârstă sub 50 de ani a prezentat de două ori mai frecvent tumori HER2 pozitive.

23. Carcinoamele lobulare din lotul studiat ar putea fi la fel de agresive ca cele ductale având în vedere că subgrupul carcinoamelor mamare lobular invazive a supraexprimat HER 2 într-o proporție relativ similară cu subgrupul carcinoamelor mamare ductal invazive.

24. Prezența constantă a unui scor HER2 mai mare în componenta in situ a carcinoamelor analizate comparativ cu componenta invazivă a sugerat că HER2 joacă un rol important în stadiile incipiente ale tumorigenezei mamare.

25. Supraexpresia cu intensitate maximă a proteinei HER2 se asociază mai frecvent cu tumorile slab diferențiate și cu cele lipsite de receptori hormonal.

Identificarea cazurilor cu coexpresia HER2 și ER a permis selectarea pacienților care vor dezvolta rezistență la terapia hormonală și vor avea o evoluție nefavorabilă.

26. Imunocolorarea la Ki67 realizează într-o proporție extrem de mică de cazuri un pattern neobișnuit de tip membranar/citoplasmatic al reactivității care pare a se asocia cu un prognostic nefavorabil (2% din cazurile studiului de față).

Activitatea proliferativă celulară crescută s-a corelat foarte bine cu gradul histologic înalt (G3) al carcinoamelor analizate, fiind mult mai frecventă la tumorile slab diferențiate comparativ cu cele bine/moderat diferențiate (100% vs 8,62%).

Activitatea proliferativă celulară și statusul receptorilor hormonal au fost frecvent într-o relație inversă.

27. Supraexpresia p53 se întâlnește cel mai frecvent la pacientele sub 50 de ani, cu tumori peste 2 cm, de tip ductal invaziv și cu grad histologic înalt.

28. Rata crescută a supraexpresiei oncoproteinei p53 la pacientele cu fenotip hormonal heterogen și la cele cu receptori hormonal absenți, comparativ cu pacientele cu fenotip dublu pozitiv, poate explica prognosticul nefavorabil al tumorilor lipsite de unul sau de ambii receptori hormonal.

29. Coexpresia proteinei p53 cu HER2 s-a asociat întotdeauna cu o activitate proliferativă extrem de mare a tumorilor respective, conferindu-le astfel o malignitate accentuată.

30. Identificarea cazurilor cu mutații ale proteinei p53 poate selecta un grup de pacienți cu risc mai mare de recurență și deces, iar testarea expresiei p53 la pacientele HER2 pozitive identifică subgrupul cu tumori mai agresive care vor beneficia de un tratament mai agresiv.

VI CUVINTE CHEIE

Cancer mamar, tip histopatologic, receptori estrogenici și progesteronici, her 2 neu, proteina p53, Ki 67

VII. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. **Al Dujaily Y E, Al Janabi AA (2008):** High prevalence of HER2 neu overexpression in female breast cancer among Iraqi population exposed to depleted uranium, *Journal of Carcinogenesis*, 1-5, 2008
2. **Al-Moundhri M, Nirmala V, Al-Mawaly (2003):** Significance of p53, bcl-2, and HER-2/neu protein expression in Ormani arab females with breast cancer, *Pathol Oncol Res* 9, 226-231, 2003

3. **Arpino G, Weiss H, Lee A (2005):** Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance.. *J Natl Cancer Inst.*;97 (17):1254-1261, 2005
4. **Ayadi L, Khabor A (2008):** Correlation of HER 2 over-expression with clinico-pathological parameters in Tunisian breast cancer, *World J of Surg Oncol* 6, 112-120, 2008
5. **Bakha EA et al:** Invasive lobular carcinoma of the breast, response to hormonal therapy and outcomes, *Eur J Cancer* 44, 73-83, 2008
6. **Bălănescu I, Blidaru I (2003):** Cancerul sanului in *Tratat de patologie chirurgicala, sub redactia Nicolae Angelescu, Editura Medicala Bucuresti* 2003, pp 1187-1206.
7. **Bane AL, Tjan S, Parkes RK et al :** Invasive lobular carcinoma: to grade or not to grade, *Mod Pathol* 18, 621/628, 2005
8. **Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, Osborne CK, Clark GM (2003):** Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol* 21:1973-1979, 2003
9. **Bostwich DG, Qian J, Ramnani DM (2002):** Immunohistochemistry of the prostate and bladder, testis and renal tumors în *Dabbs DJ: Diagnostic Immunohistochemistry, Churchill Livingstone, Philadelphia, 407-485, 2002.*
10. **Bousen H, Bouzaiene H (2008):** Inflammatory breast cancer in Tunisia: reassessment of incidence and clinicopathological features, *Semin Oncol* 35 (1), 17-24, 2008
11. **Breast cancer (2006):** Fact & figures 2005-2006
12. **Brufski A, Lemberski B (2005):** Hormone receptor status does not affect the clinical benefit of trastuzumab therapy, *Clin Breast Cancer* 6, 247-251, 2005
13. **Bull SB, Ozcelik H, Pinnanduwage D (2004):** The combination of p53 mutation and neu/erbB2 amplification is associated with poor survival in node-negative breast cancer, *J Clin Oncol* 22, 86-96, 2004
14. **Ciocca D, Gago FE (2006):** Co-expression of steroid receptors and HER2 neu: Clinical implications, *J of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 102, 32-40, 2006
15. **Ding SL, Sheu L F, Yu JC, Yang TL, Chen B, Leu FJ, Shen CY (2004):** Expression of estrogenreceptor alfa and Ki 67 in relation to pathological and molecular features in early onset infiltrating ducatal carcinoma, *J Biomed Sci* 11, 911-919, 2004
16. **Dixon JM, Jacksona J, Hillsb M, Renshawa L, Camerona DA, Andersona TJ, Millera WR, Dowsettb M (2004):** Anastrozole demonstrates clinical and biological effectiveness in oestrogen receptor positive breast cancers, irrespective of the erbB 2 status, *Eur J Cancer* 40, 2742-2747, 2004
17. **Edward Obedian, Diana B. Fischer, Bruce G. Haffty, Doria R, Holford T, Farber LR (2000):** Second Malignancies After Treatment of Early-Stage Breast Cancer: Lumpectomy and Radiation Therapy Versus Mastectomy, *Journal of Clinical Oncology*, Vol 18, Issue 12 (June), 2000: 2406-2412
18. **Ellis IO, Galea M, Broughton N, Locker A, Blamey RW, Elston CW.** Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long term follow-up. *Histopathology* 1992;20:479-489
19. **Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Garau X, et al. Invasive Breast Carcinoma.** In: Ellis IO și col., 2003, Devilee P. World health Organization Classification of

- Tumours. Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, France: IARC Press; 2003:23-26.
20. **Foote F, Stewart F:** Lobular carcinoma in situ, *Am J Pathol* 17, 491-496, 194
 21. **Ferlay J, P Autier, M Boniol, M Heanue, M Colombet and P Boyle,** 2007: Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006, *Ann Oncol* (2007) 18 (3): 581-592
 22. **Gasco M, Shukri Shami and Tim Crook (2002):** The p53 pathway in breast cancer, *Breast cancer Res* 4, 70-76, 2002
 23. **Grazia Arpino, Valerie J Bardou, Gary M Clark and Richard M Elledge (2004):** Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome, *Breast Cancer Res* 2004, **6**:R149-R156
 24. **Hanagiri T, Nozoe T, Mizukami M, et al.** Clinicopathological Characteristics of Invasive Lobular Carcinoma of the Breast 32: 76-80, 2009
 25. **Houlston RS (2001):** What we could do now: molecular pathology of colorectal cancer, *J Clin Pathol: Mol Pathol* 54: 206-214, 2001
 26. **Keating JT, Ince T, Crum CP (2001):** Surrogate biomarkers of HPV infection in cervical neoplasia screening and diagnosis, *Advances in Anatomic Pathology* 8: 83-92, 2001
 27. **Korkolis D, Tsoli E, Yiotis J (2002):** Her2-neu overexpression in breast cancer an immunohistochemical study including correlation with clinico-pathologic parameters, p53 oncoprotein and catehepsin-D, *Anticancer Res* 21, 2207-2212, 2002
 28. **Lindboe CF, Torp SH (2002):** Comparison of Ki/67 equivalent antibodies, *Journal of Clinical Pathology*, 55: 467-471, 2002.
 29. **Linnea I Chap, Sanford H Barsky, Lawrence W Basset and. Charles M Haskell (2000):** Breast cancer in Cancer treatment , edited by Charles Haskell, fifth edition, WB Saunders Company 2000, pp 507-531.
 30. **Lori Jardines, MD, Sharad Goyal, MD, Paul Fisher, MD, Jeffrey Weitzel (2005):** Breast cancer overview, Risk factors, screening, genetic testing, and prevention, *Cancer managemnt a multidisciplinary approach*, edited by Richard Pazdur, MD, William J. Hoskins, MD, Lawrence R. Coia, MD , Lawrence D. Wagman, MD, 9th Edition, PRR MELVILLE NY 2005, pp 175-201,
 31. **Megha T, F Ferrari, A Benvenuto, C Bellan, A V Lalinga, S Lazzi, S Bartolommei, G Cevenini, L Leoncini, and P Tosi (2002):** p53 mutation in breast cancer. Correlation with cell kinetics and cell of origin, *J Clin Pathol* 55, 461-466, 2002
 32. **Moinfar F:** Essentials of diagnostic breast pathology, A practical approach, Ed Springer, 2007
 33. **Molland JG, Donnellan M, Janu NC, Carmalt HL, Kennedy CW, Gillet DJ.** Infiltrating lobular carcinoma- a comparison of diagnosis, management and outcome with infiltrating duct carcinoma. *Breast Cancer RES.* 2004; **6**:149-156.
 34. **Orvieto E, Maiorano E, Bottiglieri L, et al.** Clinicopathological Characteristics of Invasive Lobular Carcinoma of th Breast. 2008; 113: 1511-1520.
 35. **Petit T, Wilt M, Velten M (2004):**Comparative value of tumour grade, hormonal receptors, ki67, HER 2and topoisomerase II alfa status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline based chemotherapy, *European J of Cancer* 40, 205-211, 2004
 36. **Qualino E (2004):** Concordant morphologic and gene expression data show that a vaccine halts HER2/neu preneoplastic lesions. *J Clini Invest* 113, 709-717, 2004.

37. **Ries Lag, Melbert D, Krapcho M, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, Clegg L, Horner MJ (2007):** *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004*, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2004/, based on November 2006 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2007.
38. **Ryden L, Landberg G, Stal O (2008):** HER 2 status in hormone receptor positive premenopausal primary breast cancer adds prognostic, but not tamoxifen treatment predictive information, *Breast Cancer Res Treat* 109, 351-357, 2008
39. **Seo Bo Kyoung, Juneyoung Leeb, Seok Jin Kimc, Kyu Ran Chod, Ki Yeol Leea, Bo-Kyung Jea, Hee Young Kima, Young-Sik Kime, Ju-Han Lee (2006):** Correlation of *HER-2/neu* Overexpression With Mammography and Age Distribution in Primary Breast Carcinomas, *Academic radiology*, Volume 13, Issue 10, October 2006, Pages 1211-1218
40. **Sidoni A, Antonio Cavaliere, Guido Bellezza, Rachele Del Sordo, Francesca Angiero, Stefania Gori, Antonio Rulli, and Emilio Bucciarelli (2006):** Coexpression of HER 2/neu and p53 in breast cancer identifies a subset with an aggressive biopathological profile, *Tumori* 92, 412-415, 2006
41. **Spyratos F, Magali Ferrero-Poüs, Ph.D. Martine Trassard, M.D , Kamel Hacène, D.Sc., Edelmira Phillips, M.T. , Michèle Tubiana-Hulin, M.D., Viviane Le Doussal, M.D (2002):** Correlation between MIB I and other proliferation markers, clinical implications of MIB I cut-off value, *Cancer* 94, 2151-2159, 2002
42. **Tan PH, Boon-Huat Bay, George Yip, Sathiyamoorthy Selvarajan, Patrick Tan, Jeanie Wu, Chee-How Lee and Kuo-Bin Li (2005):** immunohistochemical detection of Ki 67 in breast cancer correlates with transcriptional regulation of genes related to apoptosis and cell death, *Modern pathol* 18, 374-381, 2005
43. **Taylor RJ, Jackson TC, Reid JG (2003):**The differential expression of oestrogen receptors, progesterone receptors, Bcl 2 and Ki-67 in endometrial polyps, *BJOG* vol. 110: 794-798, 2003.
44. **Trihia H, Murray S, Price K, Gelber RD, Golouh R, Goldhirsch A, Coates AS, Collins J, Castiglione-Gertsch M, Gusterson BA (2003):** Ki 67 expression in breast carcinoma, its association with grading systems, clinical parameters and other prognostic factors-a surrogate marker?, *Cancer* 97 (5), 1321-1331, 2003
45. **Tyczynski JE, Freddie Bray, D. Maxwell Parkin (2002):** European Network of Cancer Registries (ENCR). International Agency for Research on Cancer. Breast Cancer in Europe. ENCR Cancer Fact Sheets, Volume 2, December 2002.
46. **Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E, De Cremoux P, De Rycke Y, Nicolas A (2000):** High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases 1: *Histopathology*.;37 (6):536-45, 2000.
47. **Zhou Bo, YANG De-qi, XIE Fei (2008):** Biological markers as predictive factors of response to neoadjuvant taxanes and anthracycline chemotherapy in breast carcinoma *Chinese medical journal* , vol. 121 (5), 387-391, 2008

VIII. CURICULUM VITAE

Nume PLEȘAN **Prenume** DRAGOȘ MIHAI

Adresa: Str. V. Babeș Nr. 4, Ap. 3, Sc. 2, Bl. TN19 Dr-Tr-Severin, Mehedinți, România

Telefon Mobil: 0744836391

E-Mail: dragomax2000s@yahoo.com

Data si Locul Nașterii: 16 08 1980, Dr-Tr-Severin

Limba Maternă: ROMÂNĂ

Limbi Străine Cunoscute: **Engleza** **Franceza**

Abilitatea de a citi: Foarte Bine Bine

Abilitatea de a scrie: Foarte Bine Bine

Abilitatea de a vorbi: Foarte Bine Bine

Aptitudini și Competențe tehnice -utilizare calculator(Permisul European de conducere a Computerului-2005)
-conducător auto, categoria B

Educație și Formare

1995-1999: Ministerul Educației și Invățământului, Liceul Traian (Teoretic Nr. 1) Dr-Tr-Severin-Cursuri de Invățământ Forma La Zi

1999-2005: Ministerul Educației și Cercetării, Universitatea din Craiova,

Facultatea de Medicina Generală, Craiova-Cursuri de Invățământ Forma La Zi

2005: **Doctorand** UMF Craiova, disciplina Fiziologie normala si patologica

2005: Permisul European de Conducere a Computerului (**ECDL** Certificate)

2005-2008: Medic rezident, specialitate Medicina de Familie, Spitalul Judetean Drobeta Turnu Severin

2008: Preparator universitar UMF Craiova, disciplina Ginecologie

2008-prezent: Medic rezident Obstetrica-Ginecologie, Spitalul nr2 Filatropia Craiova.

2008: Test of english as a foreign language (**TOEFL**) (B2)

2009: Certificate of proficiency in english (**CPE**) (B2)

2011: Diplome de Francais Medical (B2)

Tipul Calificarii: Doctor Medic/Diplomă de Licență

Domeniul Studiat: Medicină curativă

Nivelul de clasificare a formei de instruire: Invățământ Medical Superior

IX. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE realizate de autor, prezentate la manifestări naționale și/sau publicate în reviste de specialitate.

1. **Dragos Mihai Plesan, Claudia Valentina Georgescu, Nicoleta Patrana, C Plesan, D. Stoica:** Immunohistochemical study of p53 and Ki67 in a group of patients with mammary carcinoma, articol in extenso, Romanian Journal of Morphology and Embriology, 51(3):459–465, 2010

2. **Dragos Mihai Plesan, Milena Georgescu, Claudia Valentina Georgescu, Nicoleta Patrana, Teodora Nina, C Plesan:** Immunohistochemical evaluation of hormone receptors with predictive value in mammary carcinomas, articol in extenso, Romanian Journal of Morphology and Embriology, 52(4):1331–1336, 2011
3. **Pleşan C, Bogdan FI, Moraru G, Plesan Dragos Mihai, Egher D:** Studiul clinic și statistic în cancerul colorectal, Revista Română de Oncologie, 42(1), 21-32, 2005.
4. **Pleşan C, Bogdan FI, Moraru G, Plesan Dragos Mihai, Egher D:** Tratamentul citostatic adjuvant la pacienții cu cancer colorectal stadiu II și III, Revista Română de Oncologie, 42(1),33-44, 2005.
5. **Pleşan C, Bogdan FI, Moraru G, Plesan Dragos Mihai, Egher D:** Tratamentul citostatic la pacienții cu cancer colorectal metastatic, Revista Română de Oncologie, 42 (1),45-56, 2005.