

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ**



***EFICIENȚA METODELOR ADJUVANTE DE
DIAGNOSTIC MOLECULAR ÎN ÎMBUNĂȚĂȚIREA
REZULTATELOR TERAPEUTICE ÎN CANCERUL
RECTAL NEEREDITAR***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

PROF. UNIV. DR. MIRCEA BEURAN

STUDENT-DOCTORAND:

GEORGESCU TEODOR-FLORIN

BUCUREȘTI

2020

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

INTRODUCERE

I. PARTEA GENERALĂ

- 1. Anatomia chirurgicală a rectului**
 - 1.1. Noțiuni generale**
 - 1.2. Topografie, raporturi și structura rectului**
 - 1.3. Vascularizația rectului**
 - 1.4. Drenajul limfatic al rectului**
 - 1.5. Inervația rectului**
- 2. Epidemiologie, factori de risc și protectivi ai neoplasmului rectal**
 - 2.1. Epidemiologia cancerului rectal**
 - 2.2. Factori de risc ai neoplasmului rectal**
 - 2.3. Factori protectivi ai cancerului rectal**
- 3. Diagnosticul pozitiv în cancerul de rect**
 - 3.1. Manifestări clinice**
 - 3.2. Investigații paraclinice și stadializarea clinică a cancerului rectal**
 - 3.3. Anatomie patologică**
- 4. Tratamentul cancerului de rect**
 - 4.1. Terapia oncologică neoadjuvantă**
 - 4.2. Tratamentul chirurgical**
 - 4.3. Tratamentul oncologic adjuvant și supravegherea postoperatorie**
- 5. Markerii moleculari implicați în neoplasmele rectale**
 - 5.1. Căile carcinogenezei**
 - 5.2. Mutațiile KRAS și NRAS**
 - 5.3. Mutațiile BRAF**
 - 5.4. Mutațiile TP53**
 - 5.5. Mutațiile PIK3CA**
 - 5.6. Clasificarea neoplasmelor rectale**

II. PARTEA SPECIALĂ

6. Ipoteza de lucru și obiectivele studiului doctoral

7. Eficiența diagnosticului imunohistochimic (MMR, p53 și Bcl-2) în cancerul rectal neereditar tratat neoadjuvant

7.1. Introducere

7.2. Material și metode

7.3. Rezultate

7.4. Discuții

8. Corelații clinico-patologice și prognostice în cancerul rectal sporadic

8.1. Introducere

8.2. Material și metode

8.3. Rezultate

8.4. Discuții

9. Concluzii și contribuții personale

9.1. Concluzii

9.2. Contribuții personale

BIBLIOGRAFIE

Lista lucrărilor științifice publicate și prezentate

Abrevieri utilizate

INTRODUCERE

Neoplasmul colo-rectal este estimat ca fiind a doua cauză de deces prin cancer în lume. Aproximativ 35% din tumorile colo-rectale sunt localizate la nivel rectal.[1,2]

Tumorile rectale reprezintă un grup heterogen de neoplazii, a căror clasificare și diagnostic histopatologic este adesea foarte greu de realizat. Cancerul colo-rectal este unul dintre cele mai bine caracterizate neoplasme din punct de vedere molecular. Numeroase mutații ale genelor supresoare tumorale, oncogene sau ale genelor responsabile de repararea ADN-ului (MMR) sunt dobândite în cursul genezei tumorale.[3] Tehnicile noi de diagnostic molecular vor reprezenta un factor fundamental în viitorul cercetării și studiilor clinice din acest domeniu.

Managementul cancerului de rect reprezintă o problemă importantă de sănătate publică prin morbiditatea și mortalitatea asociate, dar mai ales prin prisma implicațiilor sociale, mai ales când intervenția chirurgicală este reprezentată de amputația de rect. Managementul cancerului rectal a cunoscut progrese importante în ultimii ani, fiind astăzi apanajul unei echipe multidisciplinare formată din gastroenterolog, radiolog, radioterapeut, oncolog, chirurg, anatomopatolog și stomaterapeut.

În ultima perioadă, am observat o creștere a incidenței cancerului rectal în cadrul Clinicii de Chirurgie Generală a Spitalului Clinic de Urgență București. De asemenea, am constatat în ultimul timp, în cadrul clinicii noastre, o îmbunătățire a prognosticului pacienților cu neoplasme rectale datorită modificărilor aduse tehnicilor chirurgicale (excizia totală a mezorectului, rezecție rectală abdomino-perineală extralevatoriană) și dezvoltării tratamentului oncologic (neoadjuvant și adjuvant).

Cunoașterea cât mai exactă a prognosticului este foarte importantă pentru adaptarea strategiei terapeutice, urmărindu-se îmbunătățirea rezultatelor și a calității vieții în cazul pacienților cu neoplasme rectale.

Teza de față este alcătuită din două părți: partea generală și partea specială. Partea generală trece în revistă noțiuni despre anatomia chirurgicală a rectului, epidemiologia, diagnosticul și tratamentul cancerului rectal, respectiv markerii moleculari implicați în neoplasmul rectal.

Partea specială este formată din două studii. Ambele studii au analizat pacienți diagnosticați cu neoplasme rectale ce au suferit intervenții chirurgicale curative în cadrul spitalului în care m-am format. Primul studiu a inclus doar pacienții ce au urmat tratamente

oncologice neoadjuvante, efectuându-se teste imunohistochimice (MMR, p53, Bcl-2) din speci­menele chirurgicale. Scopul acestui studiu este de a analiza markerii moleculari descriși anterior în patologia neoplazică rectală neereditară.

Studiul al doilea a inclus bolnavi ce nu au urmat terapie neoadjuvantă, fiind operați cu viză radicală de cancer rectal ca prim gest terapeutic. Scopul acestui studiu este reprezentat de identificarea corelațiilor clinico-patologice și prognostice la pacienții diagnosticați și tratați de cancer rectal sporadic.

IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI DOCTORAL

Progresele înregistrate în tratamentul cancerului rectal, precum dezvoltarea unei tehnici chirurgicale standardizate ca excizia totală a mezorectului (TME), radioterapia sau radiochimioterapia neoadjuvantă și chimioterapia adjuvantă au redus rata recidivelor locale și au îmbunătățit supraviețuirea pacienților cu neoplasme rectale. În ciuda acestor progrese, aproximativ 40% dintre acești pacienți decedază din cauza diseminării bolii neoplazice rectale.[4-6] Astfel, este necesară depistarea unor noi markeri care să aprecieze mai exact prognosticul bolnavilor cu neoplasme rectale pentru a îmbunătăți rezultatele terapeutice în cadrul acestei patologii.

Diferite proteine asociate dezvoltării tumorale s-ar putea dovedi markeri prognostici relevanți în cancerul rectal. În ciuda progreselor înregistrate în înțelegerea patogenezei neoplasmului rectal, markerii moleculari studiați până în prezent nu au devenit factori importanți în luarea deciziilor terapeutice.[7]

Având în vedere aspectele menționate, am decis să examinez statusul proteinelor MMR, p53 și Bcl-2 în țesutul tumoral rectal, fiecare dintre aceste proteine îndeplinind roluri diferite la nivel celular. Astfel, proteinele MMR sunt responsabile de repararea ADN, p53 este o proteină supresoare tumorală, iar Bcl-2 reglează supraviețuirea și moartea celulară.[8-10]

În Spitalul Clinic de Urgență București nu se practică teste imunohistochimice din toate speci­menele chirurgicale de cancer rectal, ci doar în unele cazuri selecționate și în limita anticorpilor disponibili. Așadar, un studiu care să analizeze statusul proteinelor MMR, p53 și Bcl-2 în cadrul unui lot de pacienți diagnosticați cu tumori rectale, tratați în cadrul spitalului nostru ar fi util și cât se poate de actual, în contextul preocupărilor

internaționale de a descoperi noi metode de prognostic și tratament în cadrul acestei patologii.

Ipoteza de lucru a fost reprezentată de posibilitatea de a găsi asocieri reprezentative statistic între markerii MMR, p53 și Bcl-2 decelați imunohistochimic și diferite caracteristici clinico-patologice și prognostice în cazul pacienților cu tumori rectale maligne. De asemenea, o altă ipoteză de cercetare a constat în ideea de a încerca evidențierea unor corelații între diverși parametri clinico-patologici ai bolnavilor cu neoplasme rectale cu scopul de a îmbunătăți rezultatele terapeutice și de a aprecia mai exact prognosticul acestor pacienți.

Obiectivele generale ale cercetării constau în analiza imunohistochimică a expresiei proteinelor responsabile de repararea ADN-ului (MLH1, MSH2, MSH6 și PMS2), p53 și Bcl-2 în cancerul rectal neereditar, și de studierea diverselor corelații între parametrii clinico-patologici și prognostici la pacienții cu neoplasme rectale sporadice, având scopul de a îmbunătăți rezultatele terapeutice și a aprecia mai exact prognosticul acestor pacienți.

Obiectivele specifice sunt reprezentate de:

- găsirea de asocieri semnificative statistic între expresia proteinelor MMR, p53 și Bcl-2, și particularitățile clinico-patologice ale pacienților cu neoplasme rectale tratate neoadjuvant;
- analizarea eficacității terapiei neoadjuvante în relație cu markerii moleculari studiați în cadrul grupului de pacienți cu tumori rectale;
- aprecierea prognosticului bolnavilor cu neoplasme rectale tratate neoadjuvant în funcție de proteinele studiate imunohistochimic;
- evaluarea calității actului chirurgical prin examinarea histopatologică a specimenului chirurgical;
- investigarea corelațiilor între diverși parametri clinico-patologici în cazul pacienților cu neoplasme rectale ce nu au urmat tratament neoadjuvant;
- decelarea prognosticului bolnavilor cu tumori maligne rectale ce nu au fost tratați oncologic preoperator în funcție de parametrii clinico-patologici.

METODOLOGIA DE CERCETARE

Pentru realizarea dezideratelor propuse am realizat 2 studii:

STUDIUL 1 – Analiza eficienței diagnosticului imunohistochimic (MMR, p53 și Bcl-2) în cancerul rectal neereditar;

STUDIUL 2 – Corelații clinico-patologice și prognostice în neoplasmul rectal sporadic.

Pentru efectuarea acestor studii am format 2 loturi de pacienți ce au suferit intervenții chirurgicale cu viză curativă în cadrul Clinicii de Chirurgie Generală a Spitalului Clinic de Urgență București. Lotul de pacienți utilizat pentru realizarea primului studiu a inclus pacienți diagnosticați cu neoplasme rectale ce au urmat tratamente oncologice neoadjuvante, ulterior practicându-se procedee chirurgicale rezecționale cu viză radicală din punct de vedere oncologic în perioada 2016-2017. După obținerea specimenelor chirurgicale, s-au efectuat teste imunohistochimice din țesutul tumoral pentru evaluarea statusului proteinelor MMR, p53 și Bcl-2. Al doilea grup a fost alcătuit din pacienți cu tumori rectale maligne ce nu fost tratați oncologic preoperator, operația curativă reprezentând primul gest terapeutic. La acești bolnavi nu au fost efectuate testele imunohistochimice, studiul axându-se pe decelarea corelațiilor clinico-patologice și prognostice în vederea îmbunătățirii rezultatelor terapeutice.

Datele utilizate pentru realizarea bazelor de date folosite în această lucrare au fost colectate din sistemul informatic Hipocrate, din foile de observație, din diverse acte medicale provenite din alte unități sanitare și din buletinele histopatologice ce au inclus și rezultatele testelor imunohistochimice. Decelarea expresiei markerilor studiați a fost realizată prin procedura de imunohistochimie utilizată de laboratorul de anatomie patologică al Spitalului Clinic de Urgență București.

Instrumentul de cercetare, analiză și prelucrare a datelor

Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul programelor GraphPad 6 Prism și MedCalc 14.1.

Pentru compararea diferențelor dintre medii au fost folosite testele t student pentru două loturi, iar când a fost necesară analiza a trei sau mai multe loturi am folosit testul

ANOVA și corectura Bonfferoni. Au fost selectate analizele specifice tipului de date dependente/independente și pentru analiza asocierilor au fost folosite testele de corelație Pearson și Spearman. S-a analizat coeficientul de corelație r , care poate lua valori între -1 și 1. O corelație invers proporțională între parametri studiați este definită de o valoare r între -1 și 0. O valoare de 0, sau apropiată acesteia arată lipsa oricărei corelații, iar relația uniliniară, direct proporțională este definită ca o valoare între 0 și 1 a coeficientului de corelație. Pentru fiecare analiză în parte s-a studiat distribuția Gaussiană a datelor și s-a folosit coeficientul Pearson, dacă aceasta se respectă și coeficientul Spearman dacă nu se respectă. Analizele cu o valoare p mai mică decât 0.05 au fost considerate semnificative statistic. Aceste corelații au fost reprezentate prin metodele grafice disponibile la analizele de regresie liniară. Au mai fost necesare și comparații ale frecvențelor de distribuție, a diferiților parametri, pentru care am folosit testul Chi Square și după caz riscul relativ (RR) sau odds ratio (OR) pentru a ridica suspiciuni referitoare la șanse sau riscuri.

Pentru analiza supraviețuirii am folosit analiza Kaplan-Meier, iar un interval de confidență de 95% a fost considerat suficient pentru a evita erorile de tip 1 (alfa), cu o putere de calcul de 90%.

Pentru determinarea unor eventuale puncte de referință, au fost folosite curbele ROC, care pe lângă acest parametru au determinat și o anumită sensibilitate și specificitate. Aria de sub curbă a fost comparată cu standardul 0,5 iar puterea statistică este astfel relevată de o variabilă p mai mică de 0,05.

Considerații etice

Această cercetare respectă normele etice precum protecția datelor personale, integritatea persoanei și viața personală. Acest studiu a primit aviz pozitiv de la Comisia de Etică din cadrul Spitalului Clinic de Urgență București. Nu s-au utilizat date fictive, nu s-a recurs la folosirea deliberat eronată a metodelor statistice, precum nici la plagierea rezultatelor altor publicații.

I. PARTEA GENERALĂ. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL NEOPLASMULUI RECTAL. MARKERII MOLECULARI IMPLICAȚI ÎN CANCERUL DE RECT

Partea generală este alcătuită din 5 capitole, fiecare prezentând informații actuale din literatura medicală națională și internațională.

Primul capitol „Anatomia chirurgicală a rectului” este format din 5 subcapitole, aducând în atenția cititorului informații utile pentru chirurg despre topografia, raporturile și structura rectului, respectiv vascularizația, drenajul limfatic și inervația acestuia.

Cel de-al doilea capitol intitulat „Epidemiologie, factori de risc și protectivi ai neoplasmului rectal” prezintă succint date epidemiologice ale cancerului rectal în Statele Unite ale Americii și Europa, identificând totodată principalii factori de risc și protectivi ai tumorilor rectale maligne.

„Diagnosticul pozitiv în cancerul de rect” este titlul celui de-al treilea capitol, care expune întreg algoritmul diagnostic al neoplasmului rectal. Primul subcapitol aduce în discuție principalele manifestări clinice întâlnite în cancerul rectal, al doilea subliniază importanța investigațiilor paraclinice și stadializarea clinică a neoplasmului rectal, iar cel de-al treilea subcapitol prezintă cei mai importanți parametri ai analizei histopatologice.[11]

Al patrulea capitol denumit „Tratamentul cancerului de rect” expune, în urma unei analize minuțioase a ghidurilor și studiilor internaționale recente, managementul terapeutic actual al neoplasmului de rect și supravegherea postoperatorie a pacienților cu această patologie. Este pus accentul pe importanța exciziei totale de mezorect, operație ce a revoluționat tratamentul chirurgical al cancerului de rect.[12]

Ultimul capitol se adresează markerilor moleculari implicați în neoplasmele rectale. În prima parte a acestui capitol sunt prezentate principalele căi de dezvoltare a tumorilor maligne. Astfel, dezvoltarea cancerului colo-rectal se realizează prin diferite mecanisme, ce pot include instabilitatea cromozomială, deficiențe în sistemul de reparare a ADN – ului (mismatch repair) și fenotipul metilator. Aceste căi pot coexista la același bolnav, ele putând fi întâlnite atât în neoplasmele ereditare, cât și în cele sporadice.[13] Ulterior, în cadrul acestui capitol sunt expuse principalele mutații genetice întâlnite în cancerul rectal. Una dintre cele mai frecvente mutații genetice este reprezentată de alterarea genei TP53. Gena TP53 (p53) este o genă supresoare tumorală, având un rol important în răspunsul

organismului la stres. Este un component important al mecanismului de verificare al ciclului celular, susține integritatea genomului, inducând oprirea ciclului celular și apoptoza celulară. În celulele indemne nivelul proteinei p53 activ este scăzut. TP53 poate activa atât calea intrinsecă (mitochondrială), cât și calea extrinsecă de apoptoză celulară: P53 activează proteinele pro-apoptice și scade activitatea proteinei anti-apoptice Bcl-2. Astfel, crește permeabilitatea mitocondrială, eliberându-se citocromul c, care este responsabil de activarea căii caspazelor.[14-16] Pe lângă rolul său în reglarea ciclului celular și în apoptoza celulară, p53 este implicată, de asemenea, în reprogramarea metabolică și în reglarea radicalilor liberi de oxigen la nivel intracelular.[17,18] Până la 50% din totalul neoplaziilor conțin mutații ale genei TP53. În celelalte cazuri de malignități, există alte deficiențe ale căilor p53, ce produc proliferarea celulară necontrolată. Aceste deficiențe joacă un rol important în dezvoltarea cancerelor colorectale și pot reprezenta markeri prognostici ai răspunsului la terapia oncologică. Nu în toate cazurile de neoplazii, mutația genei TP53 produce pierderea completă a funcției proteinei p53. Anumite forme mutante p53 sunt responsabile de reprogramarea metabolică tumorală, producând astfel progresia și invazia tumorală.[19,20] Ultimul subcapitol prezintă o clasificare a neoplasmelor rectale în funcție de anumiți markeri moleculari și de calea de dezvoltare a tumorilor rectale maligne. Totodată, sunt expuși principalii factori moleculari de prognostic ai cancerului rectal.[21]

II. PARTEA SPECIALĂ. CONTRIBUȚII PERSONALE ÎN STUDIUL EFICIENȚEI DIAGNOSTICULUI IMUNOHISTOCHEMIC (MMR, P53 ȘI BCL-2) ÎN CANCERUL RECTAL NEEREDITAR TRATAT NEOADJUVANT. CORELAȚII CLINICO-PATOLOGICE ȘI PROGNOSTICE ÎN NEOPLASMUL RECTAL SPORADIC

Partea specială este alcătuită din 4 capitole și cuprinde 2 studii, ce analizează 2 loturi de pacienți cu neoplasme rectale din perspective diferite. Primul studiu se axează pe diagnosticul molecular adjuvant, iar cel de-al doilea pe depistarea unor corelații clinico-patologice și prognostice la bolnavii cu tumori rectale maligne.

STUDIUL 1

Eficiența diagnosticului imunohistochemic (MMR, p53 și Bcl-2) în cancerul rectal neereditar tratat neoadjuvant

În Clinica de Chirurgie Generală a Spitalului Clinic de Urgență București am constatat, în ultimii ani, o creștere a patologiei neoplazice rectale. Diagnosticul paraclinic și stadializarea corectă reprezintă etape esențiale în managementul neoplasmelor rectale. Astfel, în funcție de anumiți parametri (localizare, stadializare preoperatorie) decelați prin investigații endoscopice sau imagistice, cancerurile rectale pot fi operate ca primă sancțiune terapeutică sau pot urma un tratament oncologic înainte intervenției chirurgicale. În ciuda respectării indicațiilor ghidurilor internaționale în vigoare referitoare la tratamentul oncologic neoadjuvant în cancerul de rect, prognosticul acestor pacienți a fost diferit.[22]

O serie de studii au încercat să determine prin teste imunohistochemice valoarea prognostică a proteinelor MMR, p53 și Bcl-2 în cancerul colo-rectal, însă rezultatele au fost contradictorii. Totodată, foarte puține studii au analizat doar neoplasmele rectale neincluzând și cancerurile colonice.[23-25]

Instabilitatea microsatelitară traduce o deficiență a sistemului de reparare al ADN (deficiența MMR). Aceasta este observată cu preponderență la pacienții cu sindrom Lynch. În cazul pacienților cu neoplasme colo-rectale sporadice, instabilitatea microsatelitară este diagnosticată în aproximativ 15% din cazuri, restul cazurilor neavând o disfuncție a sistemului MMR.[9]

TP53 este o genă supresoare tumorală ce codează proteina p53. Această genă suferă cel mai frecvent mutații în cadrul neoplaziilor umane. Mutațiile genei TP53 sunt asociate cu un prognostic prost în cadrul neoplaziilor sporadice.[10] Principalul rezultat al mutației genei TP53 este reprezentat de pierderea funcțiilor proteinei p53 nealterate, ca de exemplu senescența și apoptoza celulelor neoplazice. Pe lângă pierderea funcțiilor supresoare tumorale, celule neoplazice par a avea o serie de avantaje prin păstrarea proteinelor p53 mutante, acestea având capacitatea de a favoriza, prin diferite căi, proliferarea neoplazică, invazia tumorală, metastazarea și rezistența la tratamentele chimioterapice.[26]

Bcl-2 reprezintă membrul fondator al unei largi familii de proteine, ce reglează supraviețuirea și moartea celulară. Aceasta este o proteină intracelulară membranară antiapoptotică, capabilă să inhibe moartea celulară programată.[27] Gena Bcl-2 este bine exprimată în limfomul folicular non-Hodgkin cu celule B din cauza unei translocării între cromozomii 14 și 18. Totodată, supraexpresia genei Bcl-2 a fost, de asemenea, diagnosticată în anumite tumori epiteliale în absența translocațiilor cromozomiale.[28]

Scopul acestui studiu este de a analiza markerii moleculari descriși anterior în patologia neoplazică rectală.

Obiectivele generale ale studiului pot fi sintetizate astfel:

- evaluarea markerilor imunohistochimici (p53, Bcl2 și MMR) în relație cu particularitățile clinico-patologice ale pacienților incluși în studiu;
- aprecierea eficacității tratamentului oncologic neoadjuvant în funcție de markerii moleculari studiați;
- analiza prognosticului pacienților din studiu în corelație cu proteinele p53, Bcl-2 și MMR diagnosticate imunohistochimic.

Au fost incluși în studiu 50 de pacienți cu neoplasme rectale, internați și operați în Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 01.01.2016 – 31.12.2017. Studiul este unul prospectiv, observațional, efectuat pe o durată de 2 ani, fiind realizat cu avizul Comisiei de Etică din cadrul Spitalului Clinic de Urgență București.

Criteriile de includere au fost reprezentate de: efectuarea unui tratament oncologic neoadjuvant, diagnosticarea neoplasmului rectal în stadiul I-III (a VIII-a ediție a Clasificării AJCC a cancerului colo-rectal), vârstă mai mare de 18 ani, semnarea de către pacienți a consimțământului informat pentru utilizarea pieselor chirurgicale, rezultate în urma intervențiilor chirurgicale, în vederea realizării testelor imunohistochimice și practicarea tuturor intervențiilor chirurgicale cu viză de radicalitate în cadrul Clinicii de Chirurgie Generală a Spitalului Clinic de Urgență București.

Au fost excluși din studiu: pacienții diagnosticați cu neoplasme rectale ce nu au urmat tratament oncologic neoadjuvant, pacienții cu neoplasme rectale diagnosticate în stadiul IV (a VIII-a ediție a Clasificării AJCC a cancerului colo-rectal), pacienții cu tumori rectale ereditare și pacienții care nu și-au dat consimțământul pentru utilizarea pieselor chirurgicale în vederea realizării testelor imunohistochimice.

Diagnosticul imunohistochimic a fost realizat în Laboratorul de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic de Urgență București din piesa de rezecție rezultată în urma intervenției chirurgicale cu viză radicală. De menționat că toate testele imunohistochimice au fost citite de către același medic anatomopatolog pentru a minimiza riscul de interpretare diferită a rezultatelor.

Cu datele obținute s-a realizat o bază de date, ce ulterior a fost prelucrată cu ajutorul programelor de analiză statistică.

Acest capitol include în cadrul subcapitolului „Rezultate” o analiză descriptivă a lotului de pacienți. Voi prezenta în continuare principalele rezultate cu impact statistic obținute.

Vârsta în relație cu Bcl-2

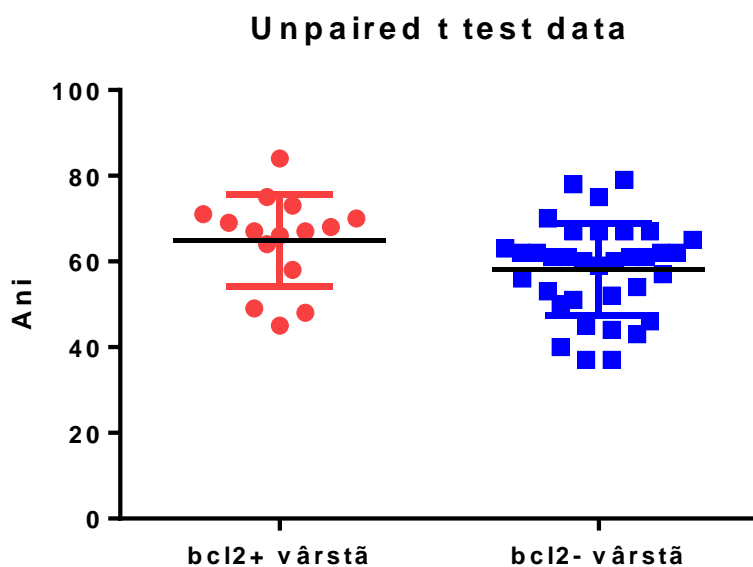


Fig. 1. Vârsta pacienților în raport cu expresia proteinei Bcl-2

Pacienții cu Bcl-2 + par să aibă o vârstă semnificativ statistic mai mare comparativ cu pacienții cu bcl-2 – (64,93 vs 58,11 ani) ($p=0.04$).

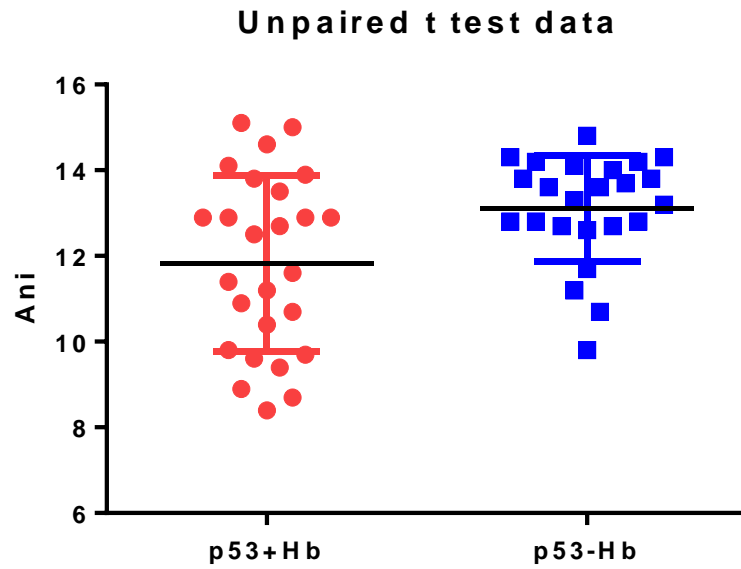


Fig. 2. Valoarea hemoglobinei decelată preoperator în funcție de statusul proteinei p53

Pacienții cu p53+ tind să fie mai anemici la momentul intervenției chirurgicale curative comparativ cu pacienții cu p53- (11,83 vs 13,11) ($p=0.01$).

Corelație între supraviețuire și hemoglobină

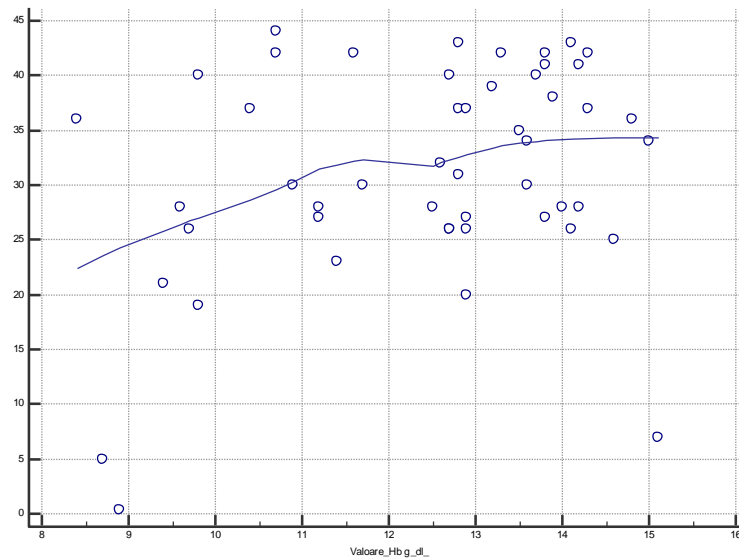


Fig. 3. Supraviețuirea globală în funcție de valoarea hemoglobinei decelată preoperator

Există o corelație direct proporțională între valoarea hemoglobinei și supraviețuirea globală ($r=0.3$, $p=0.03$). Astfel, pacienții cu anemie preoperatorie au o supraviețuire mai scăzută comparativ cu bolnavii ce au avut valori normale ale hemoglobinei înaintea intervenției chirurgicale. În urma analizei statistice între valoarea hemoglobinei și DFS, nu am obținut rezultate semnificative statistic.

Durata de spitalizare postoperatorie în raport cu expresia p53

Durata de spitalizare este semnificativ statistic mai mică în cazul pacienților cu p53 pozitiv față de cei cu p53 negativ ($p=0,03$). Astfel, bolnavii din grupul p53 pozitiv se externează, în medie, după aproximativ 11 zile, iar cei din grupul p53 negativ după 17 zile. (Fig. 4.)

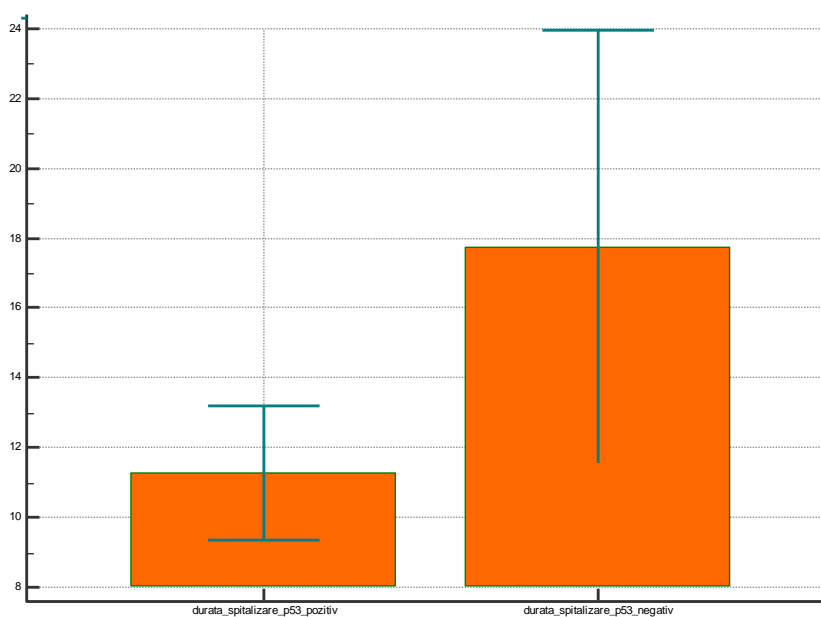


Fig. 4. Perioada de spitalizare postoperatorie în funcție de statusul p53

Corelație între durata de spitalizare postoperatorie și supraviețuirea globală (OS)

Există o corelație invers proporțională între durata de spitalizare de la intervenția chirurgicală și supraviețuirea globală ($r= -0.28$, $p=0.04$). Astfel, pacienții ce s-au externat mai repede postoperator au avut o rată de supraviețuire superioară celor internați o perioadă mai îndelungată după intervenția chirurgicală. (Fig. 5.)

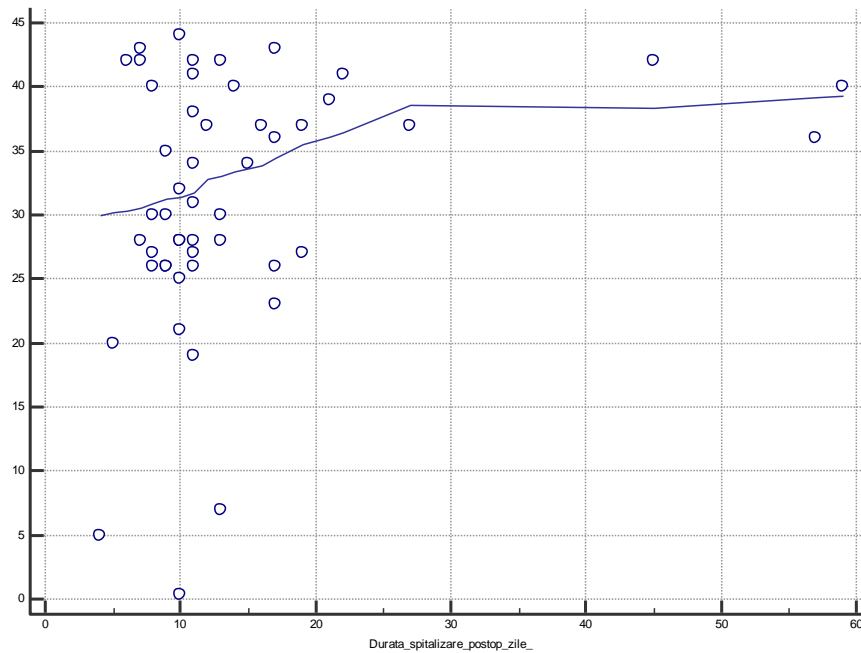


Fig. 5. Supraviețuirea globală a pacienților în funcție de durata de spitalizare postoperatorie

Corelație între durata de spitalizare postoperatorie și supraviețuirea fără recidivă tumorală (DFS)

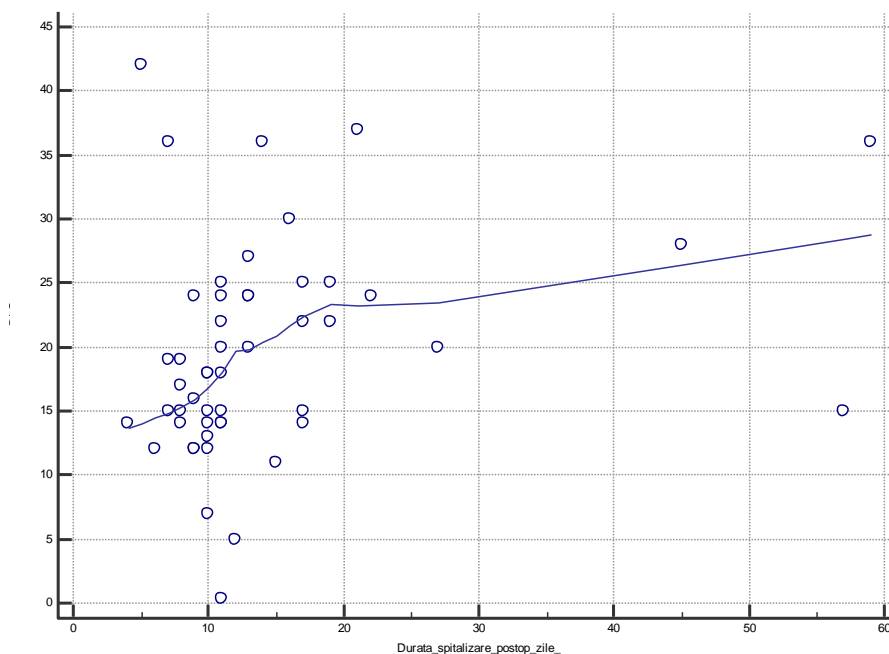


Fig. 6. Supraviețuirea fără recurență tumorală a pacienților în funcție de durata de spitalizare postoperatorie

Durata de spitalizare postoperatorie mai lungă s-a corelat cu o perioadă mai scurtă de DFS, iar numărul scăzut de zile de internare postoperator cu un prognostic mai bun în ceea ce privește supraviețuirea fără recurență tumorală ($r = -0.27$, $p=0.05$).

Invazia tumorală vasculară extramurală (EMVI) și Bcl-2

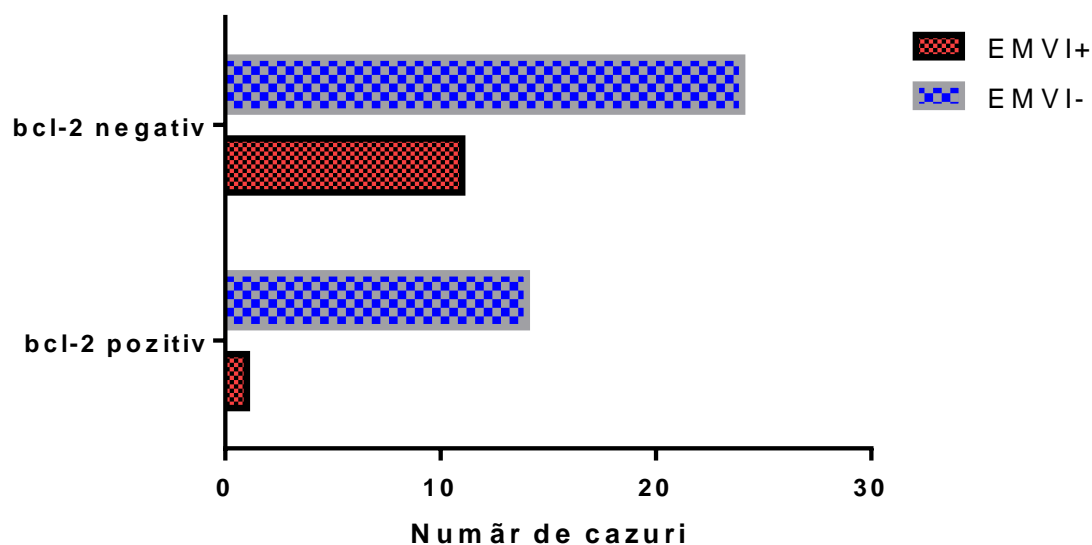


Fig. 7. Prezența invaziei tumorale vasculare extramurale în funcție de statusul Bcl-2

Statusul proteinei Bcl-2 a fost asociat cu prezența invaziei tumorale vasculare extramurale în lotul studiat. Astfel, prezența proteinei Bcl-2 a fost corelată cu o rată scăzută a invaziei tumorale extramurale (EMVI). În schimb, în grupul pacienților cu Bcl-2- a fost înregistrată o pondere substanțial mai mare a cazurilor ce au prezentat EMVI în urma analizei histopatologice. Diferența dintre cele 2 loturi de pacienți a fost una semnificativă statistic, pacienții cu Bcl-2 pozitiv având un risc mai mic de a prezenta invazie tumorală vasculară extramurală ($RR=0.21$ și $p=0.04$). (Fig. 7.)

Supraviețuirea fără recidivă tumorală locală sau la distanță (DFS) în funcție de expresia p53

Există o diferență semnificativă statistic între perioada de DFS la pacienții cu p53 – comparativ cu pacienții cu p53+ ($p=0.004$) în favoarea pacienților cu p53 negativ. (Fig. 8.)

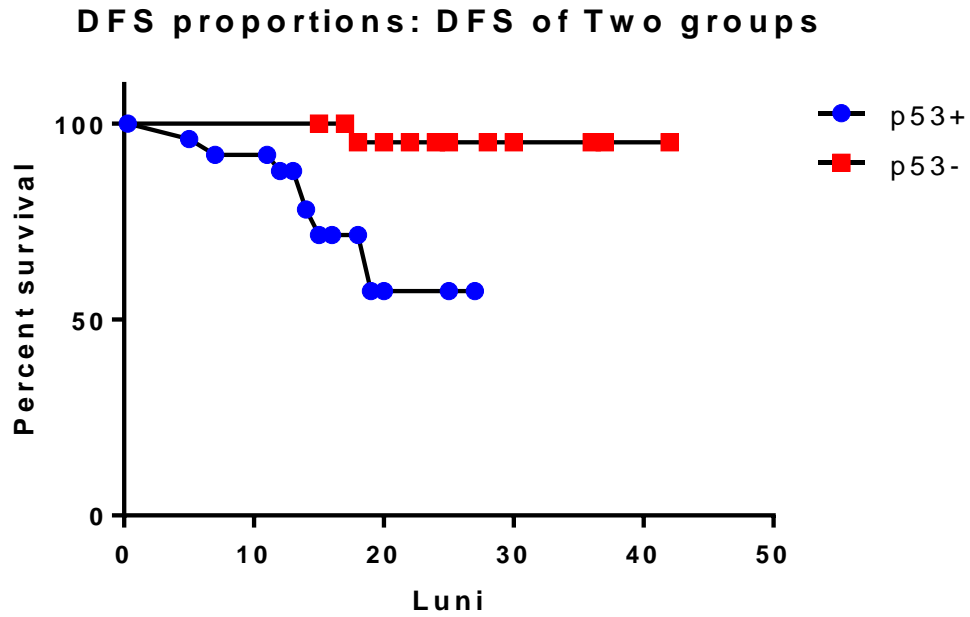


Fig. 8. DFS în raport cu prezența proteinei p53 în țesutul tumoral rectal

Supraviețuirea fără recidivă tumorală locală sau la distanță (DFS) în funcție de fenotipul combinat p53/Bcl-2

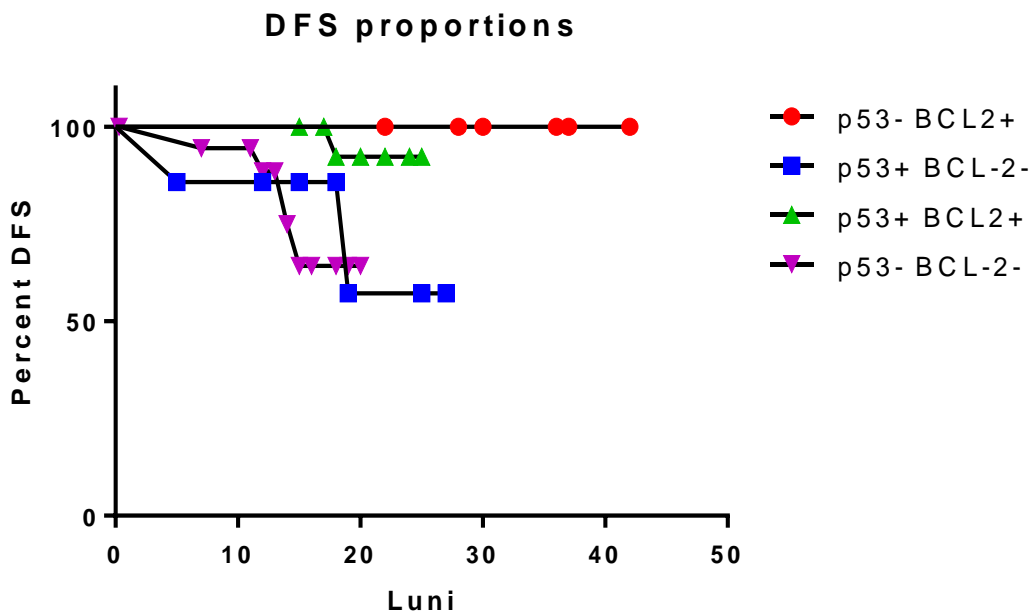


Fig. 9. Analiza multivariată a DFS în raport cu expresia combinată a p53 și Bcl-2

Analiza multivariată Kaplan-Meier a supraviețuirii fără recurență tumorală locală sau la distanță (DFS) urmează îndeaproape curbele de supraviețuire globală. Astfel,

fenotipul p53-/Bcl2+ este cel mai bun din punct de vedere prognostic, fiind urmat de expresiile p53+/Bcl2+ și p53-/Bcl2-. Cel mai slab prognostic l-au înregistrat pacienții cu statusul p53+/Bcl2-. Spre deosebire de analiza supraviețuirii globale, această observație este una semnificativă statistic ($p=0.03$).

Capitolul de discuții raportează rezultatele obținute la datele existente în literatura internațională de specialitate. Voi prezenta pe scurt cele mai importante idei ale acestei secțiuni.

Chiar dacă în studiile internaționale nu este descrisă o asemenea corelație, în lotul studiat pacienții cu Bcl-2 pozitiv sunt mai în vârstă comparativ cu cei cu Bcl-2 negativ, diferența fiind semnificativă statistic.[29]

Defectul de reparare al ADN (deficiența MMR) este unul dintre cei mai bine studiați markeri în cancerul colorectal. Sistemul de reparare al ADN ajută la menținerea fidelității genetice. Când apare un defect al acestui sistem se acumulează erori genetice ce cauzează instabilitate microsatelitară (MSI) ce conduce la carcinogeneză. Disfuncția sistemului de reparare al ADN a fost asociată cu un prognostic favorabil și cu un răspuns mai slab la terapia oncologică adjuvantă bazată pe fluoropirimidină.[30] Mutația genelor MMR a fost observată cu preponderență la pacienții cu neoplazii colo-rectale ereditare, în special cei cu sindrom Lynch.[31] Prognosticul pe termen lung al pacienților cu neoplasme rectale ce prezintă un deficit al proteinelor MMR și care au fost tratați cu viză de radicalitate nu a fost stabilit cu exactitate. Studiile internaționale ce au analizat fie supraviețuirea globală, fie supraviețuirea fără recurență tumorală în cazul pacienților diagnosticați cu neoplasme rectale cu instabilitate microsatelitară înaltă, au înregistrat rezultate contradictorii. Unul dintre aceste studii a raportat o rată de 50% a supraviețuirii globale la 5 ani în cazul acestor pacienți, iar altă lucrare a înregistrat o rată a supraviețuirii fără recidivă tumorală la 3 ani de 90% la aceiași bolnavi.[32,33] Una dintre explicațiile pentru prognosticul bun al pacienților cu neoplasme rectale cu instabilitate microsatelitară înaltă derivă din faptul că aceste tipuri de cancer induc formarea de antigene, de mediatori imuni și limfocite citotoxice. Aceste constatări dau speranțe în privința terapiilor imunologice ce se încearcă în cadrul acestei patologii.[34] Dintre genele MMR, se pare că genele MSH2 și MSH6 au fost asociate cel mai frecvent cu apariția de cancer extracolorectal.[35]

Rezultatele testelor imunohistochimice ale MLH1, PMS2, MSH2 și MSH6 au fost pozitive la toți pacienții din lotul studiat, confirmând datele din literatura de specialitate și anume că instabilitatea microsatelitară, confirmată de absența unor proteine codate de genele enumerate mai sus ca mecanism al carcinogenezei este excepțională în cadrul patologiei neoplazice rectale neereditare.[36] De asemenea, un alt studiu internațional ce a analizat expresia proteinelor MMR atât în cancerle rectale ereditare, cât și în cele sporadice, a înregistrat un deficit al acestor proteine doar în cazul neoplasmelor ereditare.[37] Având în vedere procentul ridicat de cancer rectal ereditare din totalul neoplasmelor rectale cu instabilitate microsatelitară este recomandată efectuarea testelor pentru detectarea expresiei proteinelor MMR când se depistează o componentă ereditară a tumorii rectale.[38]

Rezultatul principal al mutațiilor genelor TP53 este pierderea funcțiilor proteinelor p53 indemne, fapt ce reprezintă un avantaj fundamental în timpul dezvoltării tumorale prin deprivarea celulei de a produce acțiuni supresoare tumorale, ca senescența sau apoptoza celulară. Spre deosebire de alte gene supresoare tumorale, majoritatea mutațiilor genei TP53 sunt punctiforme, producând substituții singulare în domeniul de codare al proteinelor de la nivelul ADN. În urma acestor mutații, celule tumorale par a câștiga avantaje selective prin reținerea doar a formelor mutante ale proteinelor p53. Astfel, proteinele p53 mutante au capacitatea de a reconfigura transcripția ARN și sinteza proteică prin stabilirea de interacțiuni cu enzime ce reglează transcripția și cu alte proteine celulare.[39] Prin aceste mecanisme, proteinele p53 alterate genetic pot degrada mecanisme celulare cruciale, favorizând astfel, invazia, migrația, metastazarea tumorală și rezistența la chimioterapie.[40] Chiar dacă au fost descrise o serie de proteine p53 mutante care contribuie la agresivitatea tumorală, bazele fiziopatologice prin care progresia tumorală este dependentă de aceste proteine rămân încă neclare. Proteinele p53 mutante devin stabilizate și activate ca răspuns la condițiile de stres produse de către tumoră. Totodată, există date convingătoare care atestă faptul că proteinele p53 mutante pot ajuta celulele tumorale să reziste condițiilor nefavorabile din timpul carcinogenezei, precum stresul oxidativ și proteotoxic sau răspunsul imun anti-tumoral.[41]

Având în vedere incidența crescută a mutațiilor punctiforme ale genei TP53 în toate tipurile de neoplazii, strategia de identificare a unor terapii cu rol în blocarea acțiunilor proteinelor p53 mutante ar putea produce un impact important în tratamentul maladiei neoplazice. Totuși, un tratament antitumoral bazat pe blocarea directă a efectelor p53 mutante este departe de a intra în practica curentă. Unele studii pe această temă au ajuns la

faza trialurilor clinice, rămânând de văzut dacă medicamentele cercetate vor produce efectele scontate.[42]

Proteinele Bcl-2 sunt binecunoscute pentru abilitatea lor de a inhiba apoptoza celulară, însă unele date din literatura de specialitate arată faptul că rolul acestor proteine se poate transforma dintr-unul protectiv într-unul proapoptotic în anumite circumstanțe. În acest mod prin eliminarea secvențelor N-terminale mediată de către caspaze, fenotipul acestor proteine se modifică.[43] Conversia fenotipică a proteinelor Bcl-2 poate reprezenta explicația descoperirii conform căreia celulele ce prezintă supraexpresia acestor proteine au o activitate citotoxică superioară celorlalte celule.[44] De asemenea, această schimbare a funcției proteinei Bcl-2 poate oferi răspunsul la constatarea că expresia Bcl-2 în unele tumori este asociată unui prognostic mai bun comparativ cu neoplasmele ce nu prezintă această expresie.[45]

Cu toate că nu există lucrări științifice care să ateste o legătură între nivelul hemoglobinei în momentul diagnosticării neoplasmelor rectale și expresia p53, în grupul de pacienți analizat am observat că cei cu p53+ tind să fie mai anemici decât bolnavii cu p53-, diferența fiind reprezentativă din punct de vedere statistic. În antiteză, nu s-au înregistrat fluctuații semnificative în funcție de expresia proteinei Bcl-2. De asemenea, valoarea hemoglobinei decelată înaintea intervenției chirurgicale a fost asociată cu supraviețuirea. Astfel, anemia preoperatorie a reprezentat un factor de prognostic negativ în ceea ce privește supraviețuirea globală a pacienților din lotul studiat, fapt demonstrat și de alte studii din literatura de specialitate.[46]

În privința răspunsului la tratamentul oncologic neoadjuvant, pe care l-am apreciat cu ajutorul scorurilor de regresie tumorală Ryan și Mandard, nu am observat o corelație statistică între acesta și markerii imunohistochimici studiați. De asemenea, în alte lucrări internaționale ce au studiat aceeași temă, nu s-a putut realiza un prognostic al răspunsului la terapia neoadjuvantă în funcție de proteinele p53 și Bcl-2, mai ales în ceea ce privește scăderea stadiului TNM al tumorii în urma terapiei oncologice preoperatorii.[47,48]

Chiar dacă nu am găsit niciun studiu în literatură care să analizeze expresia proteinelor p53 și Bcl-2 în funcție de durata de spitalizare, am observat în lotul de pacienți studiat o legătură statistică între expresia p53 și o durată mai redusă de spitalizare. De asemenea, durata de spitalizare redusă s-a asociat cu un prognostic mai bun în ceea ce privește supraviețuirea globală și cea fără recurență tumorală.

Referitor la invazia tumorală extramurală vasculară (EMVI) am constatat o asociere reprezentativă statistic între aceasta și expresia proteinei Bcl-2. Astfel, am observat că

invazia extramurală vasculară a fost detectată mai frecvent la pacienții cu Bcl-2 negativ comparativ cu cei cu Bcl-2 pozitiv. Alte lucrări din domeniu au descris prognosticul favorabil al expresiei proteinei Bcl-2, mai ales în asocieri cu p53 negativ, și impactul nefavorabil al EMVI, însă corelația directă între EMVI și Bcl-2 nu a fost descrisă ca fiind concludentă în aceste studii.[49]

Concludent pentru aprecierea prognosticului unui bolnav este determinarea duratei de supraviețuire postoperatorie fără recurență tumorală locală sau la distanță (DFS). Așadar, în acest studiu, cercetarea DFS în raport cu markerul p53, a decelat un prognostic favorabil pentru pacienții cu p53 negativ. Aceeași analiză cu privire la proteina Bcl-2 a relevat o perioadă mai îndelungată de supraviețuire postoperatorie fără recidivă tumorală la pacienții cu Bcl-2 pozitiv. Diferența dintre aceste 2 observații este dată de semnificația statistică detectată doar în cazul corelației dintre DFS și p53. Aceste rezultate se aliniază rezultatelor altor lucrări internaționale.[25,50] Totuși, trebuie menționat faptul că există date în literatura de specialitate care contrazic aceste constatări, negăsindu-se asocieri semnificative statistic între p53 și DFS.[51]

Analiza multivariată a DFS în raport cu p53 și Bcl-2 a înregistrat cel mai bun prognostic în lotul pacienților cu expresia p53 negativ/Bcl-2 pozitiv, iar cel mai slab în grupul bolnavilor cu fenotipul p53 pozitiv/Bcl-2 negativ, corelația fiind una cu puternic impact statistic. Chiar dacă aceste rezultate nu sunt unanime în literatura de specialitate, există numeroase lucrări ce confirmă observațiile acestui studiu.[25,49,50] Cercetarea combinată a acestor 2 markeri este importantă deoarece proteina p53 reglează apoptoza celulară prin calea Bcl-2/Bax. P53 inhibă expresia Bcl-2 prin activarea transcripțională a genei pro-apoptice BAX.[52]

În ciuda rolului bine definit al Bcl-2 în suprimarea apoptozei celulare, datele din literatura de specialitate arată că expresia acesteia este asociată unui prognostic favorabil.[29] Aceste observații pot fi explicate prin faptul că Bcl-2 pe lângă inhibarea apoptozei, determină întârzierea creșterii celulare.[53] De asemenea, a fost raportat faptul că Bcl-2 conține un domeniu anti-proliferativ, diferit de domeniile responsabile de activitatea anti-apoptoică.[54]

În urma rezultatelor obținute, am reușit să răspundem la obiectivele propuse la începutul studiului și anume:

- am constatat că proteinele responsabile de repararea ADN (MLH1, MSH2, MSH6 și PMS2) decelate imunohistochimic nu s-au putut asocia cu niciunul dintre parametrii

clinico-patologici analizați, neavând totodată, nicio utilitate prognostică în cadrul patologiei neoplazice rectale neereditare;

- am obținut corelații semnificative statistic între: vârstă și Bcl-2, p53 și valoarea hemoglobinei la internare, p53 și durata de spitalizare postoperatorie, respectiv între EMVI și Bcl-2;
- nu am decelat o relație de cauzalitate între eficacitatea tratamentului oncologic neoadjuvant și markerii imunohistochimici studiați;
- am observat o asociere semnificativă statistic între prognosticul pacienților (DFS) și markerii p53 și Bcl-2;
- durata de spitalizare postoperatorie redusă s-a corelat cu o perioadă mai lungă de OS și DFS.

Ca urmare a concluziilor cercetării noastre, putem afirma ca unii markerii moleculari analizați (p53 și Bcl-2) au o deosebită importanță în cadrul patologiei neoplazice rectale neereditare. Totodată, consider că ar fi de real folos continuarea studiilor în acest domeniu pentru completarea datelor existente la acest moment.

Pe viitor, apreciez că ar fi utilă efectuarea de rutină, în cadrul clinicii noastre, a testelor imunohistochimice (p53, Bcl-2) la toți pacienții cu neoplasme rectale sporadice. Astfel, pe baza rezultatelor obținute s-ar putea realiza un scor de severitate cu implicații terapeutice în cadrul acestei patologii.

STUDIUL 2

Corelații clinico-patologice și prognostice în cancerul rectal sporadic

În ciuda morbidității și consecințelor funcționale survenite în urma operațiilor practicate pentru cancer rectal, rezecția totală de mezorect cu obținerea unei calități bune a acestuia, marginea circumferențială de rezecție (la peste 1 milimetru, asigurând intergitatea fasciei mezorectale) și marginea distală de rezecție (la peste 1 centimetru de tumoră), reprezintă elemente ce asigură în multe cazuri controlul apariției recidivei tumorale. Prognosticul oncologic, mai ales în ceea ce privește recidiva tumorală locală, pare a fi direct legat de obținerea unui specimen chirurgical cu o calitate bună mezorectală, indiferent de abordul chirurgical ales.[55]

În ultima perioadă, s-a pus accentul pe o analiză histopatologică detaliată pentru a se realiza o stadializare cât mai exactă și de a se identifica diverși parametri ce pot aprecia prognosticul pacienților cu neoplasme rectale.[56]

Creșterea incidenței pacienților cu neoplasme rectale în cadrul Spitalului Clinic de Urgență București și diversitatea prognosticului acestor pacienți, m-a determinat să caut posibile asocieri între diverși parametri clinico-patologici și prognostici, având scopul de a îmbunătăți rezultatele terapeutice în cadrul acestei maladii neoplazice.

Obiectivele generale ale acestui studiu au fost reprezentate de:

- aprecierea calității actului chirurgical prin analiza histopatologică a piesei chirurgicale;
- determinarea de corelații semnificative statistic între diverși parametri clinico-patologici în cazul pacienților cu neoplasme rectale ce nu au urmat tratament neoadjuvant;
- decelarea prognosticului bolnavilor cu tumori maligne rectale ce nu au fost tratați oncologic preoperator în funcție de parametrii clinico-patologici analizați.

Au fost incluși în studiu 69 de pacienți cu neoplasme rectale, ce au fost internați și au suferit intervenții chirurgicale cu viză curativă în cadrul Clinicii de Chirurgie Generală a Spitalului Clinic de Urgență București în perioada 01.01.2016 – 31.12. 2017.

Am inclus în studiu: bolnavii diagnosticați cu neoplasm rectal în stadiile I – III ale clasificării AJCC (a VIII-a ediție), pacienții la care primul gest terapeutic a fost reprezentat de procedeul rezecțional cu viză radicală, pacienții operați cu tentă curativă în Spitalul Clinic de Urgență București și pacienții cu vârstă peste 18 ani.

Au fost excluși din cercetare: bolnavii diagnosticați cu neoplasme rectale ce au urmat tratamente oncologice preoperatorii (neoadjuvant), pacienții cu tumori rectale maligne diagnosticate în stadiul IV (a VIII-a ediție a clasificării AJCC), pacienții cu cancere rectale ereditare, pacienții la care intervenția chirurgicală rezecțională nu s-a efectuat în Spitalul Clinic de Urgență București sau la care operația curativă nu a mai fost practică și bolnavii cu tumori de joncțiune recto-sigmoidiană.

În afară de secțiunea rezervată rezultatelor statistice, acest capitol include analiza descriptivă a lotului de pacienți și o descriere a timpilor operatori ai rezecției anterioare de rect cu imagini intraoperatorii sugestive.

Din subcapitolul de rezultate statistice voi prezenta cele mai importante corelații identificate.

Valoarea hemoglobinei la internare în relație cu OS

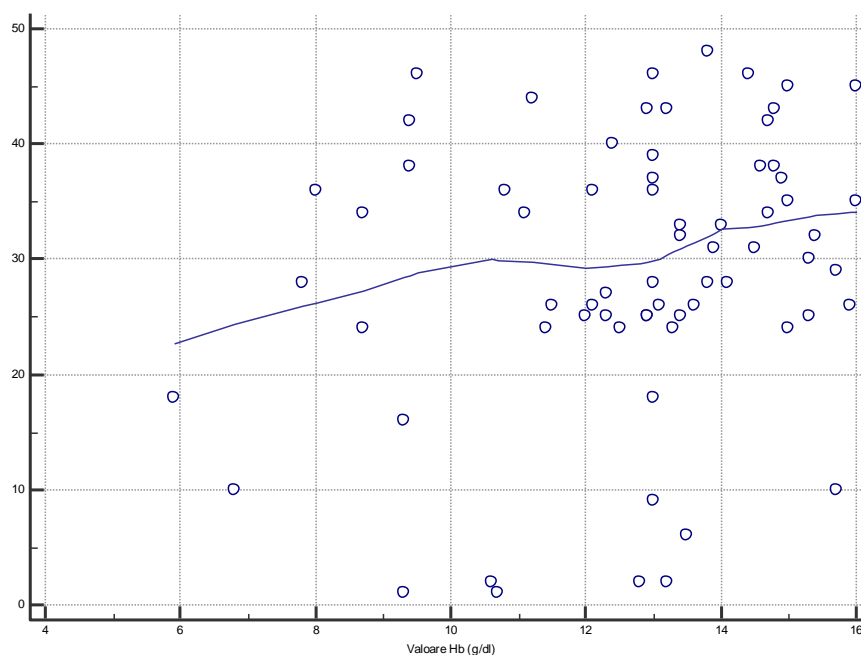


Fig. 10. Supraviețuirea globală în funcție de valoarea hemoglobinei decelată preoperator

Sample size	69
Correlation coefficient r	0,2331
Significance level	P=0,0439
95% Confidence interval for r	-0,003817 to 0,4452

Există o corelație direct proporțională între nivelul de hemoglobină și supraviețuirea globală. Astfel, cu cât nivelul hemoglobinei decelat preoperator este mai mare, cu atât pacienții vor supraviețui mai mult ($p=0,04$).

Valoarea hemoglobinei la internare în relație cu DFS

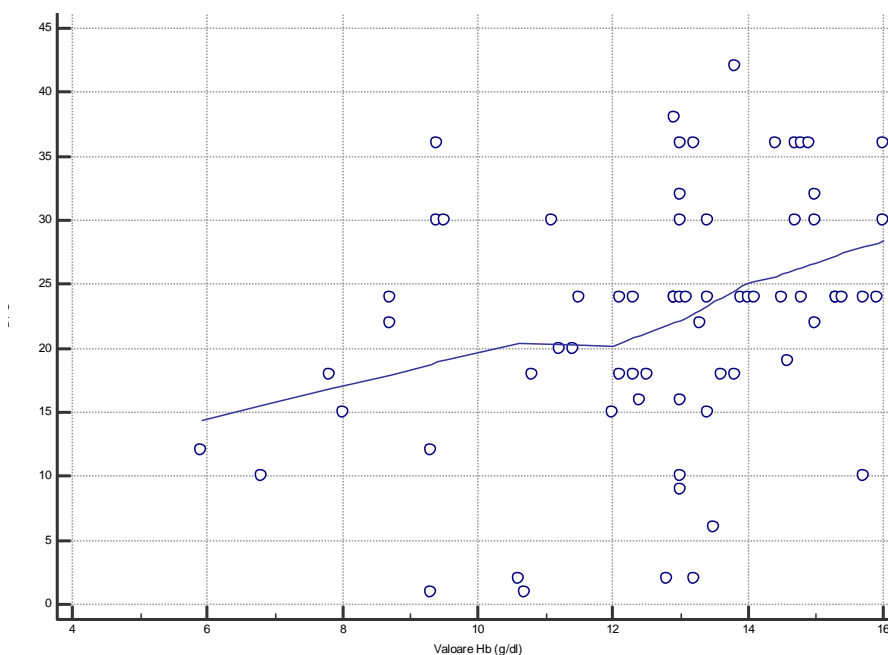


Fig. 11. DFS în funcție de valoarea hemoglobinei decelată preoperator

Sample size	69
Correlation coefficient r	0,3438
Significance level	P=0,0038
95% Confidence interval for r	0,1166 to 0,5368

Am descoperit o asociație reprezentativă statistic între nivelul hemoglobinei decelat înaintea intervenției chirurgicale și DFS. În acest sens, pacienții cu anemie preoperatorie au o perioadă de supraviețuire fără recurență tumorală mai mică comparativ cu cei la care nivelul hemoglobinei a fost în limite normale.

Relația între localizarea neoplasmului și calitatea mezorectului

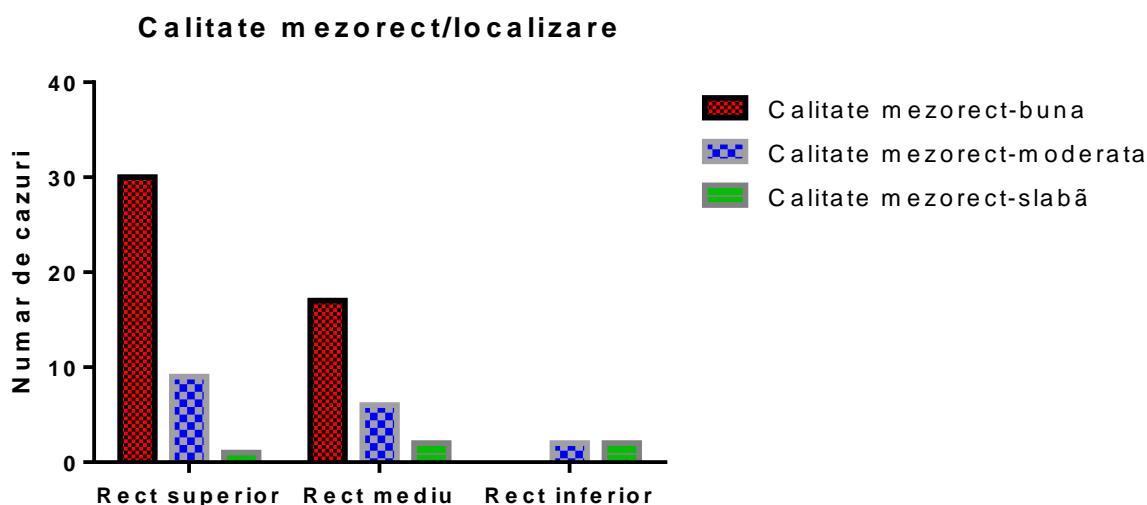


Fig. 12. Calitatea mezorectului în funcție de localizarea neoplasmului rectal

Calitatea mezorectului a fost asociată semnificativ statistic cu localizarea neoplasmului rectal (Fig. 12.). Astfel, cu cât tumora se află mai sus situată, cu atât calitatea mezorectului tinde să fie mai bună. Acest lucru este de înțeles din cauza accesibilității mai facile a rectului superior comparativ cu rectul mediu și inferior.

Relația între prezența complicațiilor locale (tumoră stenoizantă/hemoragică/perforată) și supraviețuirea globală

Survival proportions: Survival of Three groups

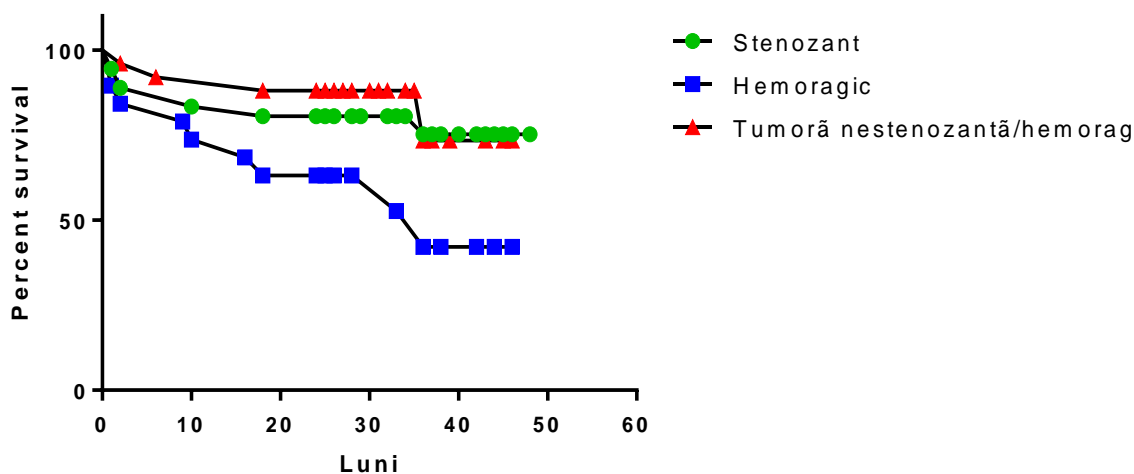


Fig. 13. Supraviețuirea globală în funcție de prezența complicațiilor locale

În primele 32 de luni, cea mai bună supraviețuire o au pacienții cu tumori de rect fără complicații locale tumorale (nestenozante/nehemoragice), urmați de pacienții cu tumori stenozante. Cea mai slabă supraviețuire au înregistrat-o pacienții cu tumori hemoragice. Diferența dintre curbele de supraviețuire este semnificativă statistic ($p=0,04$).

Relația între prezența complicațiilor locale (tumoră stenozantă/hemoragică/perforată) și complicațiile postoperatorii

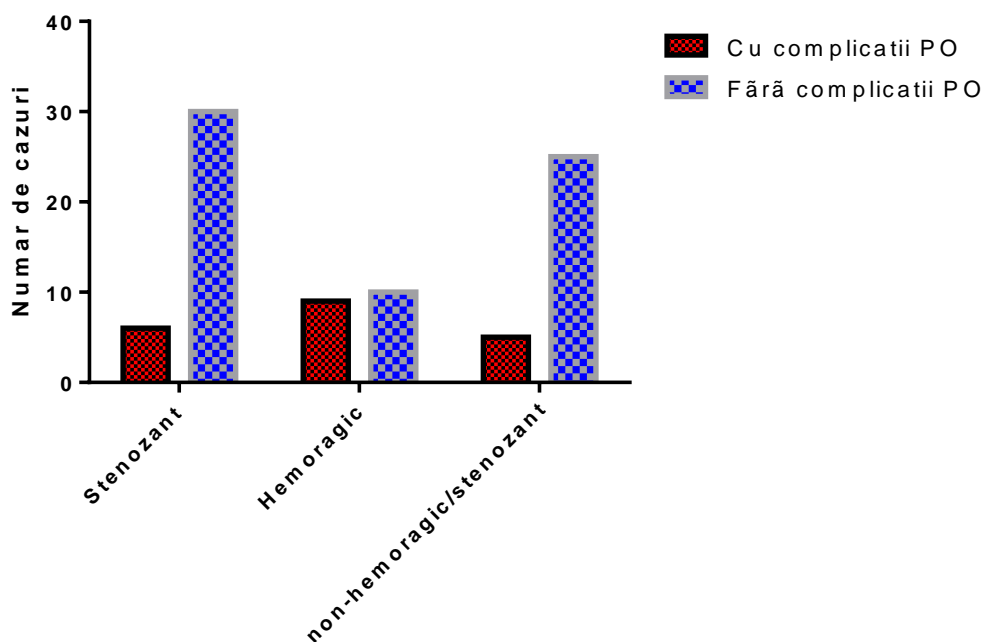


Fig. 14. Prezența complicațiilor postoperatorii în funcție de prezența complicațiilor locale

Am înregistrat complicații postoperatorii în toate cele 3 situații prezentate în graficul de mai sus, și anume în cazul tumorilor stenozante, hemoragice sau fără complicații locale, dar cel mai frecvent acestea apar în cazul pacienților cu neoplasme rectale hemoragice. Frecvența de distribuție a complicațiilor este diferită semnificativ statistic între cele 3 tipuri de tumori ($p=0,02$).

Corelație între tipul intervenției chirurgicale practicate și calitatea mezorectului

Chiar dacă tipul intervenției chirurgicale realizate nu a putut fi asociat cu apariția recidivei tumorale, acesta s-a corelat semnificativ statistic cu integritatea fasciei mezorectale corespunzătoare calității mezorectului.

Calitatea mezorectului variază mult ca frecvență de distribuție în funcție de tipul intervenției chirurgicale practicate. Astfel, pacienții la care s-a optat pentru rezecție și stomie au avut cea mai slabă calitate a mezorectului, analiza fiind puternic semnificativă statistic ($p < 0,0001$). Aceste rezultate pot fi explicate într-o oarecare măsură prin faptul că operațiile Hartmann au fost practicate de regulă în urgență, atunci când, chirurgul fiind axat pe prognosticul vital al pacientului, poate neglija standardele oncologice. Calitatea mezorectului a fost mai bună în cazul pacienților la care s-a practicat rezecția anterioară de rect comparativ cu cei la care s-a efectuat rezecția pe cale abdomino-perineală.

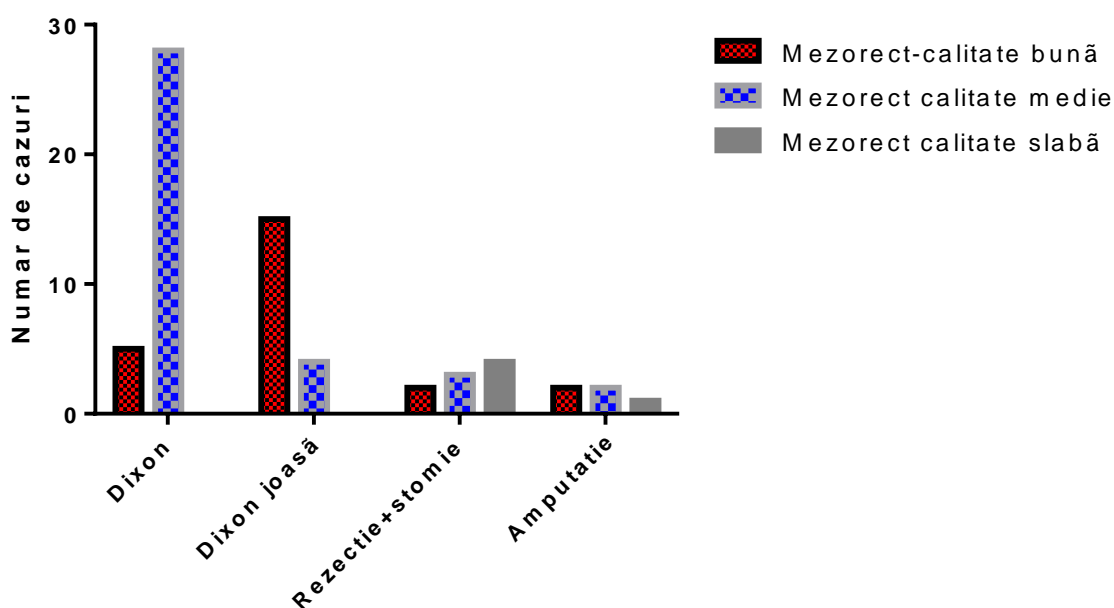


Fig. 15. Calitatea mezorectului în funcție de tipul intervenției chirurgicale practicat

Relația între stadiul N (TNM) și gradul de diferențiere tumorală

Cu cât stadiul N este mai mare cu atât gradul de diferențiere tumorală tinde să fie mai slab diferențiat. Analiza frecvenței de distribuție a grading-ului în funcție de stadiul N este puternic semnificativă statistic ($p = 0,0002$).

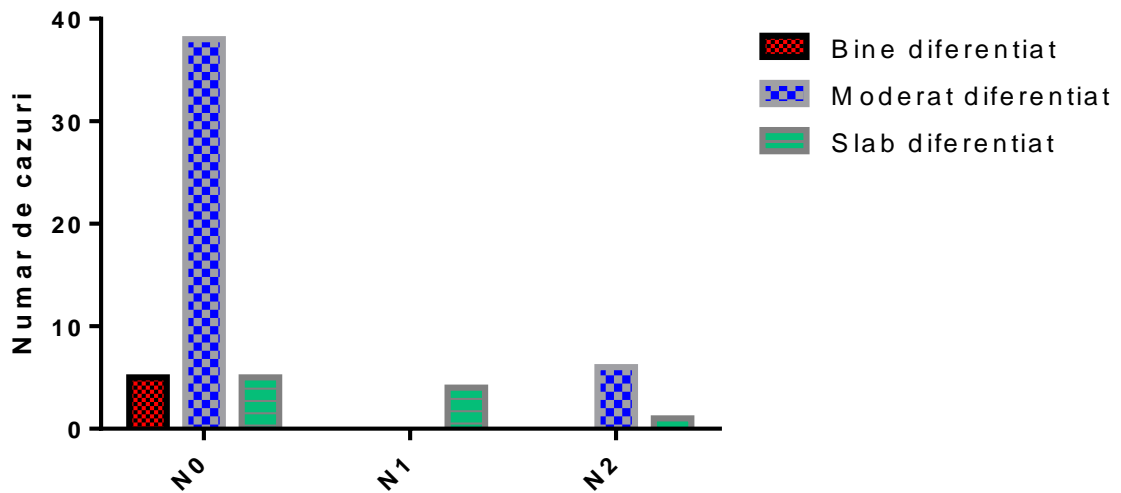


Fig. 16. Gradul de diferențiere tumorală în funcție de stadiul N (TNM)

Relația între stadiul N (TNM) și invazia tumorală angio-limfatică

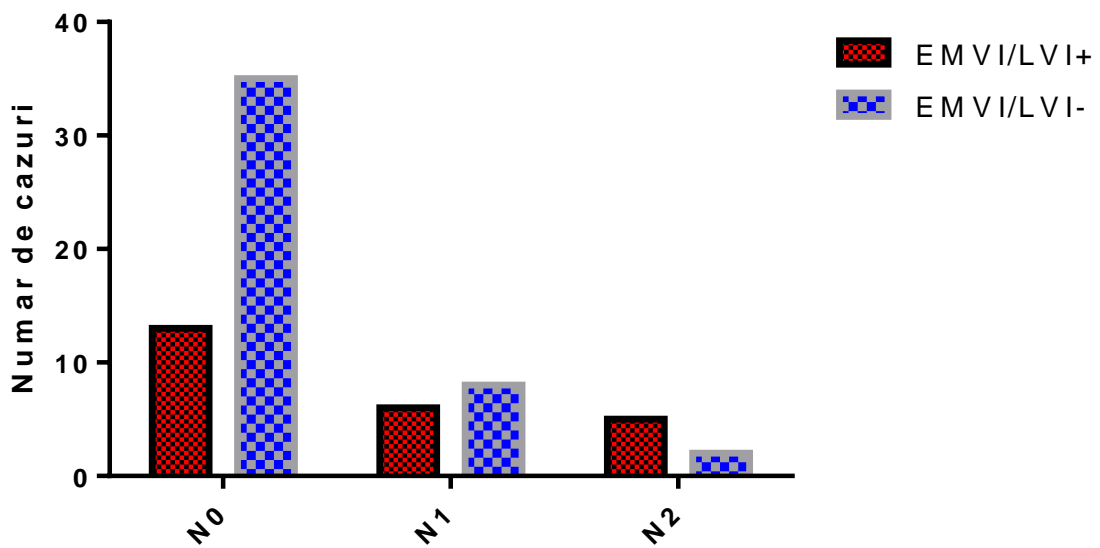


Fig. 17. Prezența invaziei angio-limfatice în funcție de stadiul N

Cu cât stadiul N a fost mai mic, cu atât nu am decelat prezența invaziei angio-limfatice. Această afirmație este susținută de reprezentarea grafică foarte sugestivă dar și de valoarea p aproape semnificativ statistică ($p=0,055$).

Corelație între gradul de diferențiere tumorală și supraviețuirea globală (OS)

Survival proportions: Survival of Three groups

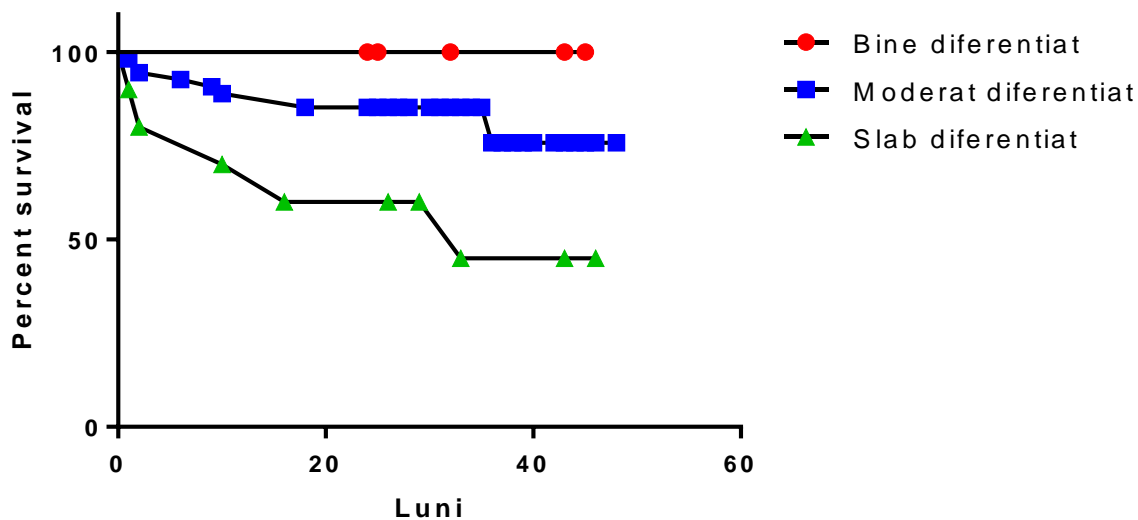


Fig. 18. Supraviețuirea globală în funcție de gradul de diferențiere tumorală

Pacienții cu neoplasme rectale bine diferențiate au avut cea mai bună supraviețuire, fiind urmați de cei cu cancere moderat diferențiate. Cea mai mare mortalitate a înregistrat-o pacienții cu tumori slab diferențiate. Curbele de supraviețuire sunt diferite semnificativ statistic ($p=0,03$). (Fig. 18.)

Corelație între tipul histologic al neoplasmelor și supraviețuirea globală (OS)

Cea mai bună supraviețuire o au pacienții cu adenocarcinoame convenționale, fiind urmați de pacienții cu tumori mucinoase și carcinoame neuroendocrine. Diferența dintre curbele de supraviețuire este puternic semnificativă statistic. (Fig. 19.)

Survival proportions: Survival of Three groups

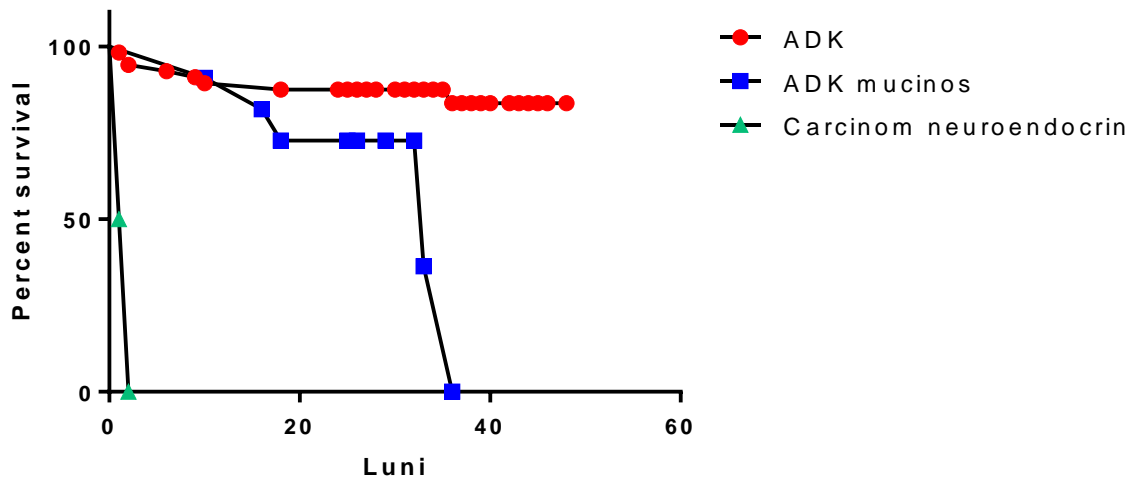


Fig. 19. Supraviețuirea globală în funcție de tipul histologic al tumorilor

Corelație între tipul histologic al neoplasmelor și DFS

Survival proportions: Survival of Three groups

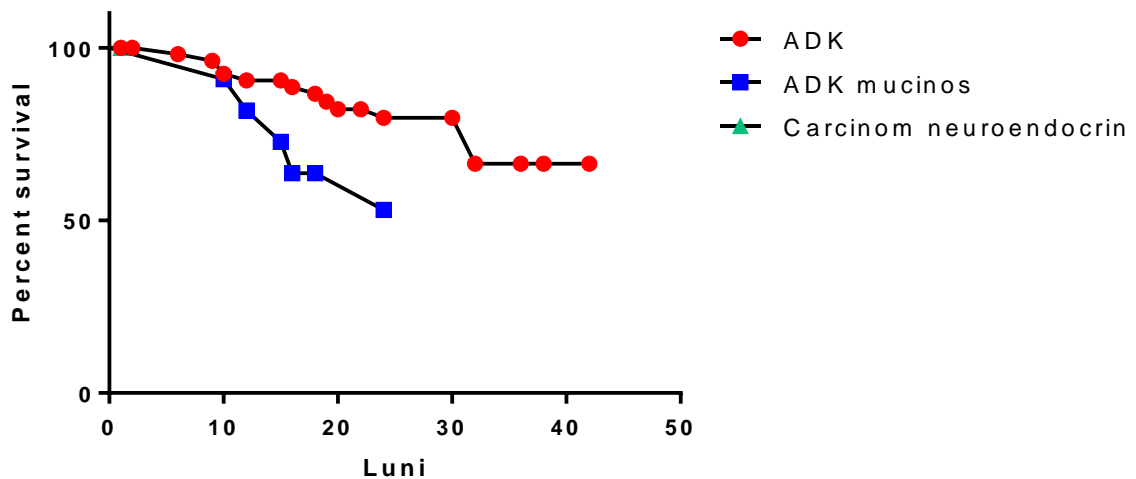


Fig. 20. DFS în funcție de tipul histologic al tumorilor

Pacienții cu cea mai ridicată rată de recurență tumorală sunt cei cu carcinoame mucinoase, urmați de cei cu adenocarcinoame. Merită menționat faptul că pacienții cu carcinoame neuroendocrine nu au recidive din cauza supraviețuirii foarte reduse. Analiza Kaplan-Meier este puternic reprezentativă statistic.(Fig. 20.)

Survival proportions: Survival of Three groups

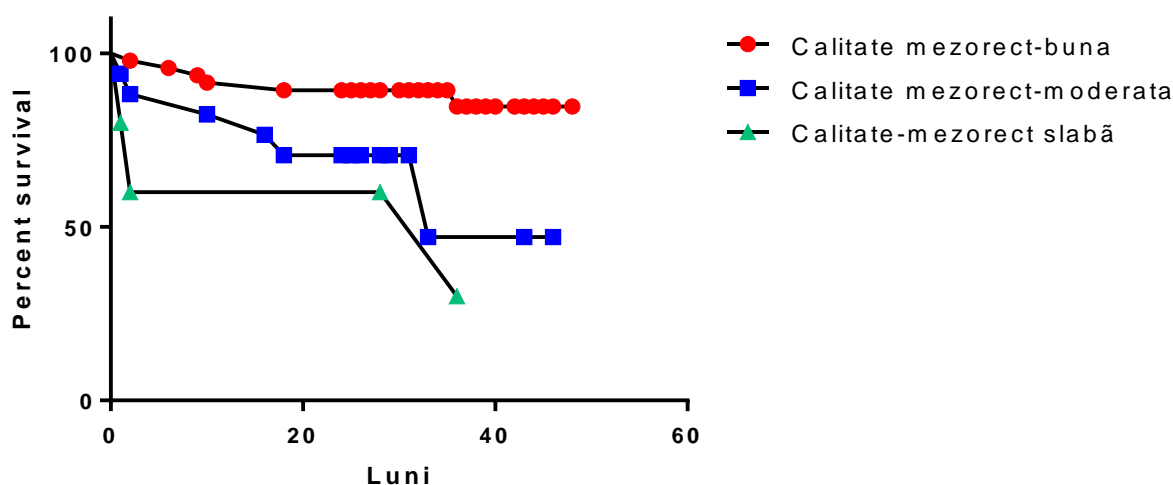


Fig. 21. Supraviețuirea globală în funcție de calitatea mezorectului

Supraviețuirea pacienților este direct influențată de calitatea mezorectului după cum urmează: bolnavii cu o calitate slabă a mezorectului au înregistrat cea mai slabă supraviețuire, fiind urmați de pacienții cu o calitate moderată, iar pacienții cu cea mai bună supraviețuire au avut cea mai bună calitate a mezorectului. Analiza Kaplan-Meier a celor 3 curbe de supraviețuire ne relevă o valoare p puternic semnificativ statistică ($p=0,0067$). (Fig. 21.)

Voi expune în continuare cele mai importante idei ale subcapitolului „Discuții” al acestui studiu.

Anemia decelată preoperator este o descoperire frecventă în cancerul colo-rectal. Există date în literatura de specialitate care atestă faptul că nivelul hemoglobinei în cancerul colo-rectal este asociat cu inflamația sistemică.[57] Mecanismele care stau la baza acestei asocieri sunt diverse. În primul rând, citokinele proinflamatorii inclusiv interleukina 6 (IL-6) stimulează expresia hepatică a hepcidinei, care inhibă absorbția fierului la nivelul duodenului.[58] În al doilea rând, în condiții inflamatorii, există o disponibilitate limitată a fierului pentru eritrocite din cauza alterării funcțiilor macrofagelor. Stimulul produs de citokinele proinflamatorii conduce la activarea macrofagelor, care fagocitează și degradează eritrocitele. Citokinele proinflamatorii precum TNF- α și IFN gamma inhibă direct proliferarea celulelor progenitoare

eritrocitare.[260] Totodată, TNF- α și IFN gamma inhibă sinteza de eritropoietină în rinichi, ducând la scăderea eritropoiezei.[59]

Valoarea hemoglobinei decelată preoperator s-a dovedit a fi în studiul de față un factor de prognostic atât al supraviețuirii globale cât și al apariției recurenței tumorale la bolnavii cu neoplasme rectale. Astfel, anemia diagnosticată preoperator la acești pacienți a fost asociată cu o scădere a supraviețuirii globale și cu o rată mai crescută de apariție a recidivelor tumorale, rezultate regăsite și în alte studii din literatură.[60,61]

Având în vedere mecanismele de apariție ale anemiei în neoplasmul rectal și faptul că aceasta reprezintă un factor de prognostic negativ în această patologie, terapiile ce modulează răspunsul inflamator s-ar putea dovedi utile în îmbunătățirea rezultatelor terapeutice în cancerul de rect prin tratarea anemiei de cauză inflamatorie.[62]

Majoritatea neoplasmelor din studiul de față au fost localizate la nivelul rectului superior, fapt explicabil prin includerea în studiu doar a pacienților ce au fost operați ca prim gest terapeutic, ghidurile internaționale în vigoare recomandând această atitudine terapeutică mai frecvent în cazul cancerelor rectale superioare.[22]

Localizarea neoplasmului rectal a reprezentat un factor ce a influențat calitatea mezorectului, corelația între acești 2 parametri fiind semnificativă statistic. Astfel, cu cât neoplasmul a fost mai jos situat la nivelul rectului, cu atât calitatea mezorectului a avut mai mult de suferit, lucru observat și de alte grupuri de cercetători. Un studiu german realizat pe un număr de 4606 de pacienți a decelat faptul că localizarea cancerului rectal mai jos de 8 cm de orificiul anal, reprezintă un factor independent asociat cu obținerea unei calități moderate sau slabe a mezorectului, confirmând rezultatele studiului de față.[45]

Diagnosticarea neoplasmului rectal într-un moment în care acesta prezintă complicații locale (tumoră stenoizantă, hemoragică sau perforată) a fost corelată statistic cu o supraviețuire mai scăzută și cu o rată a complicațiilor postoperatorii mai ridicată. Unele date din literatura de specialitate confirmă faptul că tumorile rectale stenoizante sau hemoragice reprezintă factori de prognostic negativ.[63]

Majoritatea operațiilor practicate în acest studiu au reușit prezervarea sfîcterului anal, rezecția rectală abdomino-perineală fiind aleasă în doar 6 cazuri. Într-un singur caz s-a considerat oportună excizia locală a tumorii rectale datorită stadiului incipient al acesteia.

Calitatea mezorectului este dată de planul în care se realizează disecția acestuia. Astfel, realizarea disecției în planul mezorectului corespunde unei calități bune, planul intramezorectal este asociat unei calități moderate, iar planul muscularei proprii a fost asimilat unei calități slabe mezorectale.[64] Alt studiu definește calitatea mezorectului

astfel: un mezorect intact este denumit complet, un mezorect cu leziuni mai mici de 2 cm este catalogat incomplet, iar un mezorect cu leziuni mai mari de 2 cm este definit ca fiind nesatisfăcător.[65]

În ceea ce privește calitatea mezorectului în funcție de operația practică, rezecțiile anterioare de rect au fost asociate unui calități mezorectale superioare comparativ cu rezecțiile rectale pe cale abdomino-perineală. Alte studii internaționale au obținut diferențe semnificative între aceste 2 intervenții chirurgicale în ceea ce privește calitatea mezorectului obținută, rata recidivelor locale și supraviețuirea pacienților cu neoplasme rectale. Astfel, aceste cercetări au înregistrat o rată a recurențelor tumorale, o supraviețuire și o calitate a mezorectului mai slabe în cazul bolnavilor ce au suferit rezecții rectale pe cale abdomino-perineală comparativ cu cei la care s-a optat pentru o rezecție rectală anterioară. Aceste rezultate pot fi explicate prin afectarea mai frecventă a marginii circumferențiale de rezecție prin perforații intraoperatorii, ce este asociată cu extirparea unui volum mai mic de țesut de la nivelul tumorii în cazul rezecțiilor abdomino-perineale.[66-69]

Abordul laparoscopic a fost utilizat într-un procent scăzut în acest studiu chiar dacă există din ce în ce mai multe date în literatura de specialitate care atestă faptul că rezecțiile rectale pe cale laparoscopică sunt sigure, aceste intervenții înregistrând rezultate similare cu operațiile clasice în ceea ce privește prognosticul bolnavilor cu neoplasme rectale.[70]

Ileostomele laterale de protecție au fost practicate în doar 8 cazuri în studiul de față. Analizând posibilă asociație între practicarea ileostomiei de protecție și necesitatea reintervențiilor chirurgicale în lotul studiat, nu am găsit o corelație statistică. Totuși, un studiu austriac, prospectiv, randomizat, multicentric ce a studiat efectuarea ileostomiei de protecție în cazul rezecției anterioare joase de rect a observat o rată mai ridicată a fistulelor anastomotice în cazul pacienților la care nu s-a practicat ileostomia de protecție, concluzionând faptul că ileostomia laterală de protecție ar trebui practică în cazurile în care anastomoza se află la mai puțin de 6 cm de orificiul anal.[71]

Durata medie de spitalizare postoperatorie înregistrată în prezentul studiu a fost similară cu cea raportată de către un studiu englez realizat pe un număr de 240.873 de bolnavi operați pentru neoplasme colo-rectale. Același studiu englez a găsit corelații semnificative statistic între durata îndelungată de spitalizare postoperatorie și vârsta înaintată a pacienților, prezența comorbidităților, stadiul avansat al tumorii sau practicarea intervenției chirurgicale în urgență.[72] În lotul de pacienți analizat am căutat corelații

între durata de spitalizare postoperatorie în raport cu bolile asociate ale pacienților și supraviețuirea acestora, negăsind nicio asociere între variabilele studiate.

Stadiul N (TNM) al tumorilor rectale a fost corelat în grupul nostru de pacienți cu gradul de diferențiere tumorală. Similar cu alte date din literatura de specialitate, neoplasmul rectal slab diferențiat prezintă un risc mai mare de metastazare limfatică, înregistrând un prognostic mai slab decât tumorile moderat și bine diferențiate.[73]

Invazia angio-limfatică a fost decelată în 34% din cazuri, aceasta rată fiind dublă față de cea regăsită în alte lucrări internaționale.[74,75] În linie cu rezultatele din literatura de specialitate, invazia angio-limfatică a fost asociată cu prezența metastazelor ganglionare. Într-un studiu publicat de Blumberg ce a analizat 318 pacienți cu neoplasmul rectal, prezența metastazelor ganglionare a fost decelată la 14% din bolnavii fără invazie angio-limfatică, iar în cazul tumorilor cu invazie angio-limfatică determinările secundare limfatice au fost diagnosticate în 33% din cazuri.[76]

Invazia perineurală a fost diagnosticată în 26% dintre tumorile examinate, acest procent fiind superior comparativ cu alte rezultate din literatura de specialitate.[77] În studiul nostru, nu am observat corelații statistice între invazia perineurală și tipul histologic sau stadiul N al tumorilor.

Gradul de diferențiere tumorală a fost asociat statistic cu supraviețuirea globală, însă nu am regăsit aceeași corelație între acesta și perioada de supraviețuire fără recurență tumorală (DFS) sau rata recidivelor tumorale. Astfel, pacienții cu tumori rectale bine diferențiate au înregistrat un prognostic mai bun față de cei cu tumori moderate sau slab diferențiate. Similar cu rezultatele noastre, un studiu amplu sud-coreean a observat în urma evaluării histopatologice a specimenelor chirurgicale, că gradul de diferențiere tumorală a constituit un factor de prognostic atât în cazul analizei univariate, cât și în cazul celei multivariate pentru bolnavii cu cancer rectal. Același studiu a observat că gradul de diferențiere tumorală a reprezentat un factor de prognostic mai important pentru cancerul rectal comparativ cu cel colonic.[63]

Tipul histologic al neoplasmelor rectale a constituit un factor de prognostic atât în privința OS, cât și a DFS. În acest fel, caracterul mucinos al tumorilor a reprezentat un element de prognostic negativ. În alte lucrări din literatura de specialitate, tumorile cu histologie mucinoasă sau coloidă au fost asociate cu o incidență crescută a metastazelor ganglionare și cu un prognostic nefavorabil. Totuși, datele sunt conflictuale în ceea ce privește tumorile incipiente unde se pare că tipul histologic nu mai joacă un rol atât de important.[78,79]

Calitatea mezorectului a reprezentat în studiul nostru un factor de prognostic doar în ceea ce privește supraviețuirea globală a pacienților cu cancere rectale. Cu toate că nu am obținut o legătură statistică între apariția recidivei tumorale după rezecțiile rectale și calitatea mezorectului, alte lucrări internaționale au descris această corelație. În acest fel, aceste studii raportează efectul planului de disecție utilizat în timpul operației cu apariția recidivei tumorale, planul muscular propriu fiind asociat unei rate crescute de apariție a recidivelor tumorale locale comparativ cu planurile mezorectal sau intramezorectal. Aceleași studii au confirmat și rezultatele prezentului studiu referitoare la raportul între calitatea mezorectului și supraviețuirea globală.[69,80]

În ceea ce privește analiza comparativă a celor 2 studii incluse în prezenta teză de doctorat, cu privire la OS și DFS, am înregistrat o supraviețuire ușor mai bună pentru pacienții ce au urmat tratamente neoadjuvante față de cei tratați chirurgical de primă intenție, însă această diferență nu s-a dovedit reprezentativă statistic.

Concluzionând, am obținut corelații semnificative statistic între diverși parametri clinico-patologici în cazul pacienților analizați și anume:

- între localizarea cancerului rectal și calitatea mezorectului;
- între complicațiile locale ale neoplasmului și rata complicațiilor postoperatorii;
- între intervenția chirurgicală practică și calitatea mezorectului;
- între stadiul N (TNM) și gradul de diferențiere tumorală;
- între stadiul N și prezența invaziei angiolimfatice.

În același mod am decelat unele caracteristici clinico-patologice ce au fost asociate cu indicii prognostici la bolnavii cu tumori rectale maligne studiați:

- OS a fost corelată cu valoarea hemoglobinei decelată preoperator, cu prezența complicațiilor locale ale tumorilor rectale, cu gradul de diferențiere tumorală, cu tipul histologic al cancerelor rectale și cu planul de disecție al mezorectului corespunzător calității acestuia;
- DFS a fost corelată cu prezența sau absența anemiei preoperatorii și cu tipul histologic al tumorilor rectale.

În încheiere, aș vrea să subliniez importanța evaluării minuțioase a parametrilor clinico-patologici în cazul pacienților cu neoplasme rectale, întrucât aceștia reprezintă elemente cheie în tratamentul și în aprecierea prognosticului acestor bolnavi. Pentru realizarea acestui deziderat sunt necesare evaluări imagistice și histopatologice complete care să includă toți factorii clinico-patologici importanți în tratamentul bolii neoplazice rectale. Pe cale de consecință, propun introducerea unor protocoale imagistice și

histopatologice standardizate în cazul neoplasmelor rectale, în cadrul Spitalul Clinic de Urgență București, pentru îmbunătățirea rezultatelor terapeutice în cadrul acestei patologii.

Concluzii și contribuții personale

Concluzii

- Neoplasmul rectal apare mai frecvent la sexul masculin și afectează preponderent persoanele mai în vârstă.
- Proteinele ce alcătuiesc sistemul de reparare al ADN, și anume MLH1, MSH2, MSH6 și PMS2, nu s-au corelat statistic cu niciunul dintre parametrii studiați, nereprezentând factori de prognostic în cancerul rectal neereditar tratat neoadjuvant.
- Pacienții cu neoplasme rectale neereditare tratate neoadjuvant ce prezintă expresia proteinei Bcl-2 la analiza imunohistochimică sunt diagnosticați la o vârstă mai înaintată comparativ cu pacienții cu Bcl-2 negativ.
- Anemia preoperatorie a fost asociată cu expresia proteinei p53 în țesutul tumoral rectal în cazul bolnavilor cu cancere rectale sporadice tratate oncologic preoperator.
- Durata de spitalizare postoperatorie a fost simțitor mai mică la bolnavii ce au prezentat expresia proteinei p53 în celule tumorale rectale comparativ cu cei cu p53 negativ.
- Numărul redus de zile de spitalizare postoperatorie s-a asociat cu o perioadă mai lungă de OS și DFS în cazul pacienților cu cancere rectale sporadice ce au urmat tratament neoadjuvant.
- Invazia tumorală vasculară extramurală (EMVI) a fost corelată cu absența expresiei proteinei Bcl-2 în țesutul neoplazic rectal. Pacienții cu Bcl-2 pozitiv au un risc mai mic de a prezenta EMVI.

- Eficacitatea tratamentului neoadjuvant în cazul bolnavilor cu neoplasme rectale neereditare nu s-a corelat statistic cu expresia proteinelor MMR, p53 și Bcl-2.
- Bolnavii cu cancere rectale sporadice tratați neoadjuvant, ce nu au prezentat expresia p53 în țesutul tumoral, au avut o perioadă mai lungă de DFS față de cei cu p53 pozitiv.
- Analiza multivariată a markerilor p53 și Bcl-2 în cazul bolnavilor cu tumori rectale maligne neereditare tratați oncologic preoperator a arătat astfel: cel mai bun prognostic l-au avut subiecții cu fenotipul p53 negativ/Bcl-2 pozitiv, urmați de cei cu expresia p53 pozitiv/Bcl-2 pozitiv și de cei cu p53 negativ/Bcl-2 negativ. Cel mai slab prognostic l-au înregistrat cei cu fenotipul p53 pozitiv/Bcl-2 negativ.

În cazul bolnavilor cu neoplasme rectale ce nu au urmat tratamente oncologice preoperatorii, fiind operați cu viză radicală ca prim gest terapeutic, am tras următoarele concluzii:

- Valoarea scăzută a hemoglobinei decelată preoperator a fost corelată cu o supraviețuire mai redusă atât în ceea ce privește OS, cât și DFS.
- Localizarea neoplasmului rectal mai departe de orificul anal a fost asociată cu obținerea unei calități mezorectale mai bune față de localizările inferioare.
- Pacienții cu tumori stenoizante și hemoragice înregistrează supraviețuiri globale (OS) mai reduse comparative cu neoplasmele ce nu au prezentat complicații locale, cel mai slab prognostic având tumorile hemoragice. Totodată, cancerele hemoragice și cele stenoizante au fost asociate statistic cu o incidență crescută a complicațiilor postoperatorii, cea mai mare rată a acestora raportându-se în cazul tumorilor hemoragice.
- Cea mai slabă calitate a mezorectului s-a înregistrat în cazul operațiilor Hartmann. O altă corelație semnificativă statistic între tipul intervenției chirurgicale și calitatea mezorectului a fost reprezentată de calitatea superioară a mezorectului în cazul rezecțiilor anterioare de rect față de rezecțiile pe cale abdomino-perineală.

- Metastazarea ganglionară s-a asociat cu gradul mai slab de diferențiere tumorală și cu prezența invaziei angio-limfatică
- Gradul de diferențiere tumorală a reprezentat un factor de prognostic în ceea ce privește supraviețuirea globală. Tumorile mai bine diferențiate au o supraviețuire superioară celor moderat și slab diferențiate.
- Tipul histologic mucinos a fost corelat unor supraviețuiri globale și fără recurență tumorală mai reduse față de adenocarcinomul rectal convențional.
- Supraviețuirea globală mai îndelungată s-a corelat cu obținerea unei calități mezorectale bune pe specimenul histopatologic.

Contribuții personale

Descrierea unor noi tipuri de cancere rectale în funcție de anumiți parametri clinico-patologici și de diferite teste moleculare este vitală pentru aprecierea prognosticului și îmbunătățirea rezultatelor terapeutice în cadrul patologiei neoplazice rectale.

Până în prezent au fost descrise multiple caracteristici clinico-patologice cu impact în tratamentul și prognosticul pacienților cu neoplasme rectale. Unii dintre acești parametri au fost incluși în protocoale standardizate ale investigațiilor imagistice (CT, IRM) și ale examinărilor histopatologice. În România, managementul cancerului rectal nu este încă standardizat, însă consider că s-au înregistrat progrese notabile în diagnosticarea și tratamentul acestei maladii.

În ceea ce privește metodele adjuvante de diagnostic molecular, au fost descriși anumiți markeri ce pot aprecia prognosticul pacienților cu neoplasme rectale, însă există controverse încă cu privire la situațiile în care acești markeri ar trebui efectuați de rutină. Determinarea acestor markeri moleculari poate fi realizată prin teste imunohistochimice sau prin teste de genetică moleculară, procedeul ales în studiile prezentate în această teză de doctorat fiind cel imunohistochimic.

Studiile incluse în prezenta teză de doctorat abordează o patologie cu incidență în creștere în ultimii ani în România, tema acestei cercetări fiind de actualitate în literatura medicală națională și universală.

Partea specială este alcătuită din 2 studii, scopul fiind analiza markerilor MMR (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2), p53, Bcl-2 și cercetarea caracteristicilor clinico-patologice în cancerul rectal neereditare pentru a îmbunătăți rezultatele terapeutice în cadrul bolii neoplazice rectale. Fiecare dintre aceste studii realizează o analiză minuțioasă a câte unui grup de pacienți cu neoplasme rectale neereditare, din diferite perspective, aducând elemente de originalitate, pe care le voi prezenta în continuare pe scurt, împreună cu limitele cercetării, contribuțiile personale și direcțiile de perspectivă.

Studiul 1 – Eficiența diagnosticului imunohistochimic (MMR, p53 și Bcl-2) în cancerul rectal neereditar tratat neoadjuvant a fost efectuat pe un lot de 50 de bolnavi, operați în cadrul Spitalului Clinic de Urgență București, la unii dintre acești pacienți participând activ la managementul terapeutic. La toți acești pacienți au fost realizate teste imunohistochimice (MMR, p53 și Bcl-2) din țesutul tumoral prelevat din specișenele chirurgicale rezultate în urma operațiilor curative. În cadrul studiului este prezentată analiza descriptivă a lotului de pacienți și importanța markerilor moleculari studiați printr-o cercetare statistică ce a luat în considerare rezultatele testelor imunohistochimice și multiple variabile clinico-patologice și indici prognostici. Am identificat faptul că proteinele MMR nu au importanță clinică și prognostică în cazul neoplasmelor rectale neereditare. De asemenea, am demonstrat că proteinele studiate nu pot aprecia eficacitatea tratamentului neoadjuvant în cazul tumorilor rectale maligne sporadice. În schimb, proteinele p53 și Bcl-2 au fost corelate statistic cu unii parametrii clinico-patologici, având o importanță deosebită în aprecierea prognosticului bolnavilor cu neoplasme rectale neereditare. Limitele studiului au fost reprezentate de lipsa de omogenitate a datelor colectate în urma investigațiilor paraclinice sau histopatologice și numărul relativ redus de pacienți incluși în studiu. De aceea am propus includerea de rutină a testelor imunohistochimice p53 și Bcl-2 la toți pacienții cu neoplasme rectale și continuarea studiilor clinice pe această temă pentru descrierea în viitor a unui scor de severitate în cadrul patologiei neoplazice rectale care să includă și markerii moleculari studiați.

Studiul 2 - Corelații clinico-patologice și prognostice în cancerul rectal sporadic a inclus un lot de 69 de pacienți cu neoplasme rectale operați curativ ca prim gest terapeutic în cadrul Clinicii de Chirurgie Generală a Spitalului Clinic de Urgență București. Acest studiu a fost realizat în aceeași perioadă cu primul studiu, aducându-mi contribuția, de asemenea, în managementul terapeutic al unora dintre pacienții analizați. După descrierea lotului de pacienți, am realizat un studiu statistic ce a căutat să descrie corelații clinico-patologice și prognostice semnificative, cu scopul de a îmbunătăți

rezultatele terapeutice în cadrul patologiei neoplazice rectale neereditare. Am obținut multiple corelații clinico-patologice și prognostice deosebit de utile în tratamentul cancerului rectal. Limitele acestui studiu au constat în numărul nu foarte mare de subiecți analizați și în lipsa de omogenitate a informațiilor colectate. Diagnosticul cancerului rectal ar trebui uniformizat, stadializarea preterapeutică și postterapeutică ar trebui realizată prin aceleași examinări paraclinice ce și-au dovedit utilitatea în cadrul acestei patologii (IRM pelvin, CT torace și ecocolonoscopie în anumite cazuri). De asemenea, examinarea histopatologică ar trebui să includă caracteristicile histopatologice descrise în acest studiu. Astfel, propun elaborarea unor protocoale standardizate în ceea ce privește examinările CT, IRM și histopatologică, în cadrul Spitalului Clinic de Urgență București, aliniate celor internaționale, care să includă toți parametrii clinico-patologici descriși în acest studiu, cu scopul de a îmbunătăți prognosticul pacienților cu neoplasme rectale. În ceea ce privește urmărirea postoperatorie a bolnavilor cu boli neoplazice, consider că ar fi de un real folos introducerea unui sistem informatic național care să includă toate investigațiile paraclinice efectuate de acești pacienți în orice unitate sanitară din România, la care să aibă acces toți medicii implicați în aceste cazuri.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001;2:533–43.
2. Kapiteijn E, Liefers GJ, Los LC, Kranenbarg EK, Hermans J, Tollenaar RAEM, Moriya Y, van de Velde CJH, van Krieken JHJM. Mechanisms of oncogenesis in colon vs. rectal cancer. *J Pathol* 2001; 195:171–8.
3. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61(5):759–67.
4. Heald RJ, Moran BJ, Ryall RD, Sexton R, MacFarlane JK. Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978–1997. *Arch Surg* 1998;133:894–8.
5. Kapiteijn E, Marijnen CAM, Nagtegaal ID, Putter H, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, Pahlman L, Glimelius B, van Krieken JH, Leer JW, van de Velde CJ, Dutch Colorectal Cancer Group. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl J Med* 2001;345:638–46.
6. Chau I, Cunningham D. Adjuvant therapy in colon cancer: current status and future directions. *Cancer Treat Rev* 2002;28:223–36.

7. Adlard JW, Richman SD, Seymour MT, Quirke P. Prediction of the response of colorectal cancer to systemic therapy. *Lancet Oncol* 2002;3:75– 82.
8. Ruefli-Brasse A, Reed JC. Therapeutics targeting Bcl-2 in haematological malignancies. *Biochem J* 2017 474: 3643–3657.
9. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58:5248–57.
10. Kandoth C, McLellan MD, Vandin F, Ye K, Niu B, Lu C, et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature.* 2013;502:333–9.
11. Fleming M, Sreelakshmi Ravula, Sergei F, Hanlin L. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol* 2012;3(3):153-173.
12. Heald RJ. Rectal cancer in the 21st Century – Radical operations: Anterior Resection and Abdominoperineal Excision. Capitolul 163 în Fischer’s Mastery of Surgery, Ediția 6, Vol. 2, Editura Lippicot Williams și Wilkins sub redacția Josef E. Fischer, 2012: 1713 – 1731.
13. Moriah Wright, Jenifer S. Beaty, Charles A. Ternent. Molecular markers for colo-rectal cancer. *Surg Clin N Am* 97 2017:683-701.
14. Krasnov GS, Dmitriev AA, Lakunina VA, Kirpiy AA, Kudryavtseva AV. Targeting VDAC-bound hexokinase II: a promising approach for concomitant anti-cancer therapy. *Expert opinion on therapeutic targets.* 2013; 17:1221-1233.
15. Shoshan-Barmatz V, Mizrachi D. VDAC1: from structure to cancer therapy. *Frontiers in oncology.* 2012; 2:164.
16. Ryan KM, Phillips AC, Vousden KH. Regulation and function of the TP53 tumor suppressor protein. *Current opinion in cell biology.* 2001; 13:332-337.
17. Ladelfa MF, Toledo MF, Laiseca JE, Monte M. Interaction of TP53 with tumor suppressive and oncogenic signaling pathways to control cellular reactive oxygen species production. *Antioxidants & redox signaling.* 2011; 15:1749-1761.
18. Liu J, Zhang C, Hu W, Feng Z. Tumor suppressor TP53 and its mutants in cancer metabolism. *Cancer letters.* 2015; 356:197-203.
19. Krasnov GS, Dmitriev AA, Snezhkina AV, Kudryavtseva AV. Deregulation of glycolysis in cancer: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as a therapeutic target. *Expert opinion on therapeutic targets.* 2013; 17:681-693.

20. Mathupala SP, Heese C, Pedersen PL. Glucose catabolism in cancer cells. The type II hexokinase promoter contains functionally active response elements for the tumor suppressor TP53. *The Journal of biological chemistry*. 1997; 272:22776-22780.
21. Kudryavtseva AV, Lipatova AV, Zaretsky AR, Moskalev AA, Fedorova MS, Rasskazova AS, Shibukhova GA, Snezhkina AV, Kaprin AD, Alekseev BY, Dmitriev AA, Krasnov GS. *Oncotarget*. 2016 Aug 16;7(33):53959-53983.
22. R. Glynne-Jones, L. Wyrwicz, E. Tiret, G. Brown, C. Rodel, A. Cervantes, D. Arnold, on behalf of the ESMO Guidelines Committee. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 28 (Supplement 4): iv22–iv40, 2017.
23. Baretton GB, Diebold J, Christoforis G, et al. Apoptosis and immunohistochemical Bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. *Cancer* 1996, 77, 255±264.
24. Bosari S, Moneghini L, Graziani D, et al. Bcl-2 oncoprotein in colorectal hyperplastic polyps, adenomas, and adenocarcinomas. *Hum Pathol* 1995, 26, 534±540.
25. Schwandner O, Schiedeck THK, Bruch H, Duchrow M, Windhoevel U, Broll R. p53 and Bcl-2 as significant predictors of recurrence and survival in rectal cancer. *European Journal of Cancer* 36 (2000) 348±356.
26. Walerych D, Lisek K, Del Sal G. Mutantp53: one, no one, and one hundred thousand. *Front Oncol*. 2015;5:289.
27. Yang E, Korsmeyer SJ. Molecular thanaptosis: a discourse on the Bcl-2 family and cell death. *Blood* 1996, 8, 386±401.
28. Harn HJ, Ho LI, Liu GC, Lin FG, Chang JY, Lee WH. Down-regulation of Bcl-2 by p53 in nasopharyngeal carcinoma and lack of detection of its specific t(14;18) chromosomal translocation in fixed tissues. *Histopathology* 1996, 28, 317±323.
29. Ofnerl D, Riehemann K, Maier H, Riedmann B, Nehoda H, Totsch M, Bockerl W, Jasani B, Schmid Gerhard KW. Immunohistochemically detectable bcl-2 expression in colorectal carcinoma: correlation with tumour stage and patient survival. *British Journal of Cancer* (1995) 72, 981-985.
30. Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer: The stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol* 7:153-162, 2010.
31. You YN, Vilar E. Classifying MMR variants: Time for revised nomenclature in Lynch syndrome. *Clin Cancer Res* 19:2280-2282, 2013.
32. Samowitz WS, Curtin K, Wolff RK, et. al: Microsatellite instability and survival in rectal cancer. *Cancer Causes Control* 20:1763-1768, 2009.

33. Hong SP, Min BS, Kim TI, et al. The differential impact of microsatellite instability as a marker of prognosis and tumour response between colon cancer and rectal cancer. *Eur J Cancer* 48:1235-1243, 2012.
34. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 372:2509-2520, 2015.
35. Stoffel EM, Mangu PB, Gruber SB, et al. Hereditary colorectal cancer syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline endorsement of the familial risk-colorectal cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. *J Clin Oncol* 33:209-217, 2015.
36. Bikash Devaraj, Aaron Lee, Betty L, et al. Relationship of EMAST and Microsatellite Instability Among Patients with Rectal Cancer. *J Gastrointest Surg* (2010) 14:1521–1528.
37. de Rosa N, Rodriguez-Bigas MA, Chang GJ, et al. DNA Mismatch Repair Deficiency in Rectal Cancer: Benchmarking Its Impact on Prognosis, Neoadjuvant Response Prediction, and Clinical Cancer Genetics. *J Clin Oncol* (2016) 34:3039-3046.
38. Dineen S, Lynch PM, Rodriguez-Bigas MA, et al. A prospective six sigma quality improvement trial to optimize universal screening for genetic syndrome among patients with young-onset. *J Natl Compr Canc Netw*, 2015;13(7):865-72.
39. Mantovani F, Walerych D, Sal GD. Targeting mutant p53 in cancer: a long road to precision therapy. *FEBS J*. 2017;284:837–50.
40. Walerych D, Napoli M, Collavin L, Del Sal G. The rebel angel: mutant p53 as the driving oncogene in breast cancer. *Carcinogenesis*. 2012;33:2007–17.
41. Senft D, Ronai ZE. Adaptive stress responses during tumor metastasis and dormancy. *Trends Cancer*. 2016;2:429–42.
42. Bykov VJ, Wiman KG. Mutant p53 reactivation by small molecules makes its way to the clinic. *FEBS Lett*. 2014;588:2622–7.
43. Cheng E, Clem R, Ravi R, Kirsch D, Kastan M, Bedi A, et al. Conversion of Bcl-2 to a Bax-like death effector by caspases. *Science*, 1997, 278:1966–1968.
44. Schwartz PS, Manion MK, Emerson CB, Fry JS, Schulz CM, Sweet IR, et al. 2-Methoxy antimycin reveals a unique mechanism for Bcl-x(L) inhibition. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6: 2073–2080.
45. Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, Benini E, Boracchi P, Mezzetti M, et al. The Bcl-2 protein: a prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*, 1994, 86: 499–504.

46. Stapley S, Peters TJ, Sharp D, Hamilton W. The mortality of colorectal cancer in relation to the initial symptom and to the duration of symptoms: a cohort study in primary care. *Br J Cancer*. 2006; 95:1321-1322.
47. Li-Ching Lina, Hao-Hsien Leeb, Wei-Shou Hwangc, et al. p53 and p27 as predictors of clinical outcome for rectal-cancer patients receiving neoadjuvant therapy. *Surgical Oncology*, 2006 15, 211–216.
48. Lopez-Crapez E, Bibeau F, Thezenas S, et al. p53 status and response to radiotherapy in rectal cancer: a prospective multilevel analysis. *British Journal of Cancer* (2005) 92, 2114 – 2121.
49. Watson NFS, Madjd Z, Scrimgeour D, et al. Evidence that the p53 negative / Bcl-2 positive phenotype is an independent indicator of good prognosis in colorectal cancer: A tissue microarray study of 460 patients. *World Journal of Surgical Oncology* 2005, 3:47.
50. Qi Huang, Shu Li, Pu Cheng, Mei Deng, Xin He, Zhen Wang, Cheng-Hui Yang, Xiao-Ying Zhao, Jian Huang. High expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 is a good prognostic factor in colorectal cancer: Result of a metaanalysis. *World J Gastroenterol* 2017 July 21; 23(27): 5018-5033.
51. Jung Wook Huh, Woo Yong Lee, Seok Hyung Kim, Yoon Ah Park, Yong Beom Cho, Seong Hyeon Yun, Hee Cheol Kim, Hee Chul Park, Doo Ho Choi, Joon Oh Park, Young Suk Park, Ho-Kyung Chun. Immunohistochemical Detection of p53 Expression in Patients with Preoperative Chemoradiation for Rectal Cancer: Association with Prognosis. *Yonsei Med J* 56(1):82-88, 2015.
52. Miyashita T, Krajewski S, Krajewski M, Wang HD, Lin HK, Liebermann DA, Hoffman B, Reed JC. Tumour suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 1994, 9:1799-1805
53. Pietenpol JA, Papadopoulos N, Markowitz S, Wilson JK, Kinzler KW, Vogelstein B. Paradoxical inhibition of solid tumor growth by Bcl-2. *Cancer Res* 1994, 54:3714-3717.
54. Theodorakis P, D'Sa-Eipper C, Subramanian T, Chinnadurai G. Unmasking of a proliferation-restraining activity of the antiapoptosis protein EBV BHRF1. *Oncogene* 1996, 12:1707-1713.
55. Heald RJ, Ryall RD. Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. *Lancet* 1986;1:1479–82.
56. Nikberg M, Kindler C, Chabok A, et al. Circumferential resection margin as a prognostic marker in the modern multidisciplinary management of rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2015;58:275–82.

57. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N. Engl. J. Med.* 352, 1011–23 (2005).
58. Roy CN, Andrews NC. Anemia of inflammation: the hepcidin link. *Curr. Opin. Hematol.* 2005, 12, 107–111.
59. Spivak JL. The anaemia of cancer: death by a thousand cuts. *Nat. Rev. Cancer*, 2005, 5, 543–55.
60. Mörner MEM, Edgren G, Martling A, Gunnarsson U, Egenvall M. Preoperative anaemia and perioperative red blood cell transfusion as prognostic factors for recurrence and mortality in colorectal cancer-a Swedish cohort study. *Int. J. Colorectal Dis.*, 2007, 32,223–232.
61. Väyrynen JP, Tuomisto A, Väyrynen SA, et al. Preoperative anemia in colorectal cancer: relationships with tumor characteristics, systemic inflammation, and survival. *Scientific Reports*, 2018, 8:1126.
62. Sun CC, Vaja V, Babitt JL, Lin HY. Targeting the hepcidin-ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation. *Am. J. Hematol.*, 2012, 87, 392–400.
63. Young Jin Park, Kyu Joo Park, Jae-Gahb Park, Kuhn Uk Lee, Kuk Jin Choe, Jin-Pok Kim. Prognostic Factors in 2230 Korean Colorectal Cancer Patients: Analysis of Consecutively Operated Cases. *World J. Surg.*, 1999;23:721–726.
64. Quirke P, Steele R, Monson J, et al. Effect of the plane of surgery achieved on local recurrence in patients with operable rectal cancer: a prospective study using data from the MRC CR07 and NCIC-CTG CO16 randomised clinical trial. *Lancet* 2009; 373: 821–828.
65. Bretagnol F, Lelong B, Laurent C, et al. The oncological safety of laparoscopic total mesorectal excision with sphincter preservation for rectal carcinoma. *Surg Endosc.*, 2005;19(7):892–6.
66. Wibe A, Syse A, Andersen E, Tretli S, Myrvold HE, Soreide O. Oncological outcomes after total mesorectal excision for cure for cancer of the lower rectum: anterior vs. Abdominoperineal resection. *Dis Colon Rectum* 2004;47(1):48–58.
67. Marr R, Birbeck K, Garvican J, et al. The modern abdominoperineal excision: the next challenge after total mesorectal excision. *Ann Surg.*, 2005;242(1):74–82.
68. Jeyarajah S, Sutton CD, Miller AS, Hemingway D. Factors that influence the adequacy of total mesorectal excision for rectal cancer. *Colorectal Dis.* 2007;9(9):808–15.
69. Maslekar S, Sharma A, Macdonald A, et al. Mesorectal grades predict recurrences after curative resection for rectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2007;50(2):168–75.

70. Kang SB, Park JW, Jeong SY, et al. Open versus laparoscopic surgery for mid or low rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): short-term outcomes of an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol.*, 2010;11(7):637–45.
71. Karl Mrak, Stefan Uranitsch, Florian Pedross, Andreas Heuberger, et al. Diverting ileostomy versus no diversion after low anterior resection for rectal cancer: A prospective, randomized, multicenter trial. *Surgery*. 2016;volume 159:issue 4:1129-1139.
72. Ariadni Aravani, Elizabeth F. Samy, James D. Thomas, Phil Quirke, Eva J.A. Morris, Paul J. Finan. A retrospective observational study of length of stay in hospital after colorectal cancer surgery in England (1998–2010). *Medicine* (2016) 95:47.
73. Zenni GC, Abraham K, Harford FJ et al. Characteristics of rectal carcinomas that predict the presence of lymph node metastases: implications for patient selection for local therapy. *J Surg Oncol* 1998; 67:99-103.
74. Quah HM, Chou JF, Gonen M, et al. Identification of patients with high-risk stage II colon cancer for adjuvant therapy. *Dis Colon Rectum*, 2008;51:503–7.
75. Huh JW, Lee JH, Kim HR, et al. Prognostic significance of lymphovascular or perineural invasion in patients with locally advanced colorectal cancer. *Am J Surg*, 2013;206:758–63.
76. Blumberg D, Paty PB, Guillem JG et al. All patients with small intramural rectal cancers are at risk for lymph node metastasis. *Dis Colon Rectum*, 1999; 42:881-85.
77. Yang Y, Huang X, Sun J, et al. Prognostic value of perineural invasion in colorectal cancer: a meta-analysis. *J Gastrointest Surg*, 2015;19:1113–22.
78. Minsky BD, Rich T, Recht A, et al. Selection criteria for local excision with or without adjuvant radiation therapy for rectal cancer. *Cancer*, 1989; 63: 1421-29
79. Consorti F, Lorenzotti A, Midiri G, et al. Prognostic significance of mucinous carcinoma of colon and rectum: a prospective case-control study. *J Surg Oncol*, 2000; 73: 70-74.
80. Leite JS, Martins SC, Oliveira J, et al. Clinical significance of macroscopic completeness of mesorectal resection in rectal cancer. *Colorectal Dis.*, 2011;13(4):381–6.

Lista lucrărilor științifice publicate și prezentate

- **Georgescu TF**, Turculeț CȘ, Enache V, Georgescu DE, Georgescu MT, Beuran M. The importance of immunohistochemistry analysis of p53 and Bcl-2 in patients with preoperative oncological therapy for rectal cancer. *Ro J Med Pract.* 2020;15(2):201-205. DOI: 10.37897/RJMP.2020.2.14.
- **Georgescu TF**, Turculeț CȘ, Georgescu DE, Beuran M. Correlations between clinicopathological and prognostic parameters in patients with rectal cancer. *Ro Med J.* 2020;67(2): 150-154. DOI: 10.37897/RMJ.2020.2.10.
- **Georgescu TF**, Bobircă FT, Turculeț CȘ, Ene D, Georgescu DE, Bobircă A, Toader O, Beuran M. Multivisceral Resection in a Case of Locally Advanced Rectal Cancer and Uterine Leiomyoma. Proceedings of the the 4th Congress of the Romanian Society for Minimal Invasive Surgery in Gynecology Annual Days of the National Institute for Mother and Child Health “Alessandrescu-Rusescu”. Filodiritto Editore – Proceedings. 2018; 157:160.
- Georgescu DE, Georgescu MT, Bobircă FT, **Georgescu TF**, Doran H, Pătrașcu T. Synchronous Locally Advanced Rectal Cancer with Clinical Complete Remission and Important Downstaging after Neoadjuvant Radiochemotherapy - Personalised Therapeutic Approach. *Chirurgia (Bucur)* Nov-Dec 2017;112(6):726-733. doi: 10.21614/chirurgia.112.6.726.
- Georgescu DE, Georgescu MT, Pătrașcu T, **Georgescu TF**. Recurrent Rectal Cancer Complicated with Perforation and Necrotising Fasciitis during Neoadjuvant Therapy. *Research and Science Today, Supplement I.* 2018;1:108-114. www.rstjournal.com.
- D. Ene, C. Turculeț, **T.F. Georgescu**, E.Ciucă, A. Vlădășcău, M. Beuran. Suturi mecanice versus suturi manuale in patologia neoplazica colorectala. *Congresul National de Chirurgie*, Sinaia, 1 – 4 Iunie 2016.

- D. Ene, C. Turculeț, **T. Georgescu**, E. Ciucă, A. Vlădășcău, F. Iordache, M. Beuran. Approach and solutions in colorectal emergencies. *18th European Congress of Trauma & Emergency Surgery*, București, 7 – 9 mai, 2017.
- C. Turculeț, F. Iordache, D. Ene, **T.F. Georgescu**. Progrese in chirurgia colo-rectala in Spitalul Clinic de Urgență București. *Zilele Spitalului Clinic de Urgență București*, București, mai 2018.