

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

MEDICINĂ GENERALĂ

Cancerul de endometru în constelația Lynch
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat

PROF. UNIV. DR. NICOLAE SUCIU

Student-doctorand

BOTEA ROBERT

2024

CUPRINS

Cuprins	3
Lista cu lucrările științifice publicate.....	6
Lista cu abrevieri.....	7
Introducere	9
Partea generală.....	13
1. Prezentare generală a sindromului Lynch și a cancerului endometrial.....	13
1.1. Introducere în sindromul Lynch.....	13
1.1.1. Definiție și bază genetică	13
1.1.2. Prevalența și criteriile de diagnostic	13
1.1.3. Căile moleculare implicate	15
1.2. Cancerul endometrial în sindromul Lynch.....	16
1.2.1. Ratele de incidență în rândul purtătorilor sindromului Lynch	16
1.2.2. Caracteristici fiziopatologice specifice cancerului endometrial din sindromul Lynch ...	17
1.3. Markerii genetici și moleculari	18
1.3.1. Identificarea markerilor genetici prevalenți în sindromul Lynch	18
1.3.2. Semnăturile moleculare ale cancerului endometrial la pacienții cu sindromul Lynch ...	20
1.4. Abordarea screening-ului și diagnosticului.....	20
1.4.1. Ghiduri actuale pentru screening în sindromul Lynch.....	20
2. Strategii și rezultate terapeutice	24
2.1. Managementul cancerului endometrial în sindromul Lynch	24

2.1.1. Intervenții chirurgicale.....	24
2.1.2. Tratamente farmacologice (chimioterapie, imunoterapie).....	27
2.2 Măsurile de prevenție și supraveghere.....	36
2.2.1. Strategii de reducere a riscului.....	36
2.2.2. Protocoale de supraveghere și eficacitatea acestora	37
2.3. Prognostic și rate de supraviețuire	39
2.3.1. Ratele comparative de supraviețuire în cancerul endometrial asociat cu Lynch vs. sporadic	39
2.3.2. Factorii care influențează prognosticul la pacienții cu sindrom Lynch	39
2.4. Direcții viitoare și lacune în cercetare	41
2.4.1. Terapii emergente și studii clinice	41
2.4.2. Întrebări fără răspuns și nevoi viitoare de cercetare în domeniu	42
Partea specială.....	44
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	44
4. Mutații somatice și germinale în cancerul endometrial	46
4.1. Introducere	46
4.2. Materiale și metode.....	47
4.3. Rezultate	51
4.4. Discuții.....	77
4.5. Concluzii	84
5. Identificarea mutațiilor relevante din punct de vedere farmacologic în cancerul endometrial prin secvențierea întregului exom a probelor tumorale FFPE	85
5.1. Introducere	85

5.2. Materiale și metode.....	87
5.3. Rezultate și discuții.....	90
5.4. Concluzii.....	104
6. Variante genomice asociate sindromului Lynch.....	105
6.1. Introducere.....	105
6.2. Materiale și metode.....	108
6.3. Rezultate.....	111
6.4. Discuții.....	127
6.5. Concluzii.....	131
7. Concluzii și contribuții personale.....	132
Bibliografie.....	135

Teza de doctorat intitulată „**Cancerul de endometru în constelația Lynch**” este împărțită în două secțiuni. Prima parte cuprinde două capitole aprofundate care analizează înțelegerea actuală a sindromului Lynch și asocierea sa semnificativă cu cancerul endometrial. Aceste capitole discută bazele genetice și moleculare ale sindromului, precum și strategiile clinice și terapeutice implicate în gestionarea cancerului endometrial în acest context. A doua secțiune, care detaliază contribuțiile personale, include trei capitole care descriu motivația, obiectivele tezei, precum și metodologia și rezultatele cercetării originale efectuate în timpul studiilor doctorale.

PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1. Privire de ansamblu asupra sindromului Lynch și a cancerului endometrial

Acest capitol oferă o introducere a sindromului Lynch, o afecțiune ereditară marcată de mutații în genele de reparare a erorilor de împerechere (MMR) a ADN-ului. Aceste anomalii genetice predispun indivizii la un risc crescut de a dezvolta diferite tipuri de cancer, în special cancerul endometrial, care este cea mai frecventă malignitate extracolonică asociată sindromului. Capitolul nu discută doar despre baza genetică și mecanismele moleculare care conduc sindromul Lynch, dar conectează și acești factori cu patogenia cancerului endometrial, punând baza pentru o explorare detaliată a implicațiilor clinice ale sindromului.

Introducere în sindromul Lynch

Această secțiune începe prin definirea sindromului Lynch și discutarea fundamentelor genetice ale acestuia. Sindromul Lynch, cunoscut și sub numele de cancer colorectal ereditar non-polipozic (HNPCC), este cauzat în principal de mutații ale genelor MMR, cum ar fi MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 și EPCAM (Latham, 2019). Aceste mutații duc la instabilitatea microsateleților (MSI), o afecțiune în care erorile care apar în timpul replicării ADN-ului nu sunt corectate corespunzător, ceea ce duce la creșterea ratelor de mutație. Secțiunea detaliază prevalența sindromului Lynch, subliniind că acesta este unul dintre cele mai frecvente sindroame de cancer ereditar. În ciuda prevalenței sale, sindromul Lynch este adesea subdiagnosticat din cauza expresiei sale variabile și a lipsei de conștientizare. Secțiunea acoperă, de asemenea, criteriile de diagnostic

utilizate pentru a identifica persoanele cu risc crescut, inclusiv criteriile Amsterdam II și ghidurile Bethesda revizuite, care ghidează testarea genetică și diagnosticul de confirmare (Tamura et al., 2019; Trujillo-Rojas et al., 2023).

Cancerul de endometru în sindromul Lynch

Această secțiune se concentrează în mod special pe riscul și caracteristicile cancerului endometrial la persoanele cu sindrom Lynch. Femeile cu sindrom Lynch se confruntă cu un risc semnificativ crescut de a dezvolta cancer endometrial, cu un risc pe viață variind de la 40% la 60%. Secțiunea discută fiziopatologia distinctă a cancerului endometrial asociat cu Lynch, care este determinată în primul rând de mutațiile genei MMR care duc la un nivel crescut de MSI. Ratele mai mari de mutații în aceste tumori contribuie la profilul lor molecular unic, care include mutații frecvente în gene precum PTEN și PIK3CA. Aceste modificări moleculare nu numai că promovează tumorigeneza, ci au și implicații pentru tratament, în special utilizarea potențială a imunoterapiei. Secțiunea evidențiază necesitatea unei supravegheri precoce și agresive la pacienții cu sindrom Lynch, având în vedere vârsta mai mică de debut și natura ereditară a bolii (Capasso, 2023; Møller, 2017).

Markeri genetici și moleculari

În această secțiune, accentul se mută către identificarea și semnificația markerilor genetici și moleculari în sindromul Lynch. Discuția începe cu o explicație a markerilor cheie utilizați în diagnosticarea sindromului Lynch, în special testarea MSI și imunohistochimiei (IHC) pentru proteinele MMR. Aceste instrumente de diagnosticare sunt esențiale pentru identificarea tulburărilor genetice care caracterizează sindromul Lynch și pentru ghidarea managementului persoanelor afectate. Secțiunea explorează, de asemenea, semnăturile moleculare specifice cancerului endometrial asociat cu Lynch, inclusiv rolul mutațiilor în gena POLE, care sunt asociate cu un prognostic favorabil. Acești markeri moleculari nu numai că ajută la diagnostic, ci oferă și ținte potențiale pentru terapia personalizată, în special în contextul tratamentelor emergente precum imunoterapia (Roudko et al., 2021; Rosty et al., 2016).

Abordări de screening și diagnostic

Secțiunea finală a acestui capitol trece în revistă abordările actuale de screening și diagnostic pentru sindromul Lynch. Acesta discută recomandările universale de screening pentru pacienții cu

cancer colorectal, care includ testarea IHC și MSI ca instrumente de diagnostic de primă linie. Secțiunea examinează, de asemenea, utilizarea criteriilor clinice în identificarea persoanelor care ar trebui să fie supuse unor teste genetice pentru sindromul Lynch. Discuția se extinde la cele mai recente progrese în diagnosticarea moleculară, în special secvențierea de nouă generație (NGS), care a îmbunătățit sensibilitatea și specificitatea detectării sindromului Lynch. Integrarea acestor tehnologii avansate în practica clinică de rutină este crucială pentru detectarea precoce și gestionarea cancerelor asociate sindromului Lynch, inclusiv cancerul endometrial (Özdemir et al., 2019; Nádorvári et al., 2024).

Capitolul 2. Strategii și rezultate terapeutice

Acest capitol a fost dedicat managementului terapeutic al cancerului endometrial în contextul sindromului Lynch. Acesta oferă o analiză amănunțită a diferitelor strategii de tratament disponibile, de la intervenții chirurgicale la tratamente farmacologice și măsuri preventive. Capitolul explorează, de asemenea, rezultatele asociate cu aceste abordări terapeutice, cu un accent deosebit pe ratele de supraviețuire și prognosticul pentru pacienții cu cancer endometrial asociat cu Lynch.

Managementul cancerului endometrial în sindromul Lynch

Această secțiune prezintă strategiile standard și emergente pentru gestionarea cancerului endometrial la pacienții cu sindrom Lynch. Managementul chirurgical este subliniat ca piatra de temelie a tratamentului, histerectomia totală și salpingo-ooforectomia bilaterală (THBSO) fiind procedurile cel mai frecvent recomandate din cauza riscului ridicat de cancer ovarian sincron (Ryan et al., 2021). Secțiunea discută, de asemenea, rolul cartografierii ganglionului santinelă (SLN) în reducerea morbidității asociate cu limfadenectomia extinsă, asigurând în același timp o stadializare precisă (Touhami et al., 2017). În plus, utilizarea chimioterapiei și imunoterapiei, în special a inhibitorilor PD-1, cum ar fi pembrolizumab, este explorată ca parte a abordării multimodale a tratamentului, în special pentru cazurile avansate sau recurente (Bellone et al., 2022). Beneficiile potențiale ale imunoterapiei, având în vedere statutul MSI ridicat al tumorilor asociate cu Lynch, sunt de asemenea evidențiate.

Măsuri de profilaxie și supraveghere

Având în vedere natura ereditară a sindromului Lynch, măsurile profilactice joacă un rol crucial în gestionarea riscului de cancer. Această secțiune discută strategiile recomandate de reducere a riscului, cum ar fi THBSO profilactic, care reduce semnificativ riscul de cancer de endometru și ovarian la pacienții cu sindrom Lynch. Secțiunea acoperă, de asemenea, importanța supravegherii regulate, inclusiv biopsiile endometriale (Meyer et al., 2009), ecografiile transvaginale și colonoscopiile, pentru a detecta cancerule într-un stadiu incipient, mai tratabil (Celentano et al., 2011). Discuția abordează, de asemenea, rolul potențial al chimioprevenției, deși observă că sunt necesare mai multe cercetări pentru a stabili eficacitatea acesteia în prevenirea cancerului endometrial la această populație cu risc ridicat.

Prognostic și rate de supraviețuire

Prognosticul pentru cancerul endometrial asociat sindromului Lynch este explorat în această secțiune, cu accent pe factorii care influențează ratele de supraviețuire. Secțiunea compară rezultatele de supraviețuire ale cancerului endometrial asociat cu Lynch versus sporadic, observând că, în timp ce ratele de supraviețuire generale sunt similare, depistarea mai precoce și strategiile de management adaptate la pacienții cu sindrom Lynch conduc adesea la rezultate mai bune. Am discutat, de asemenea, despre impactul mutațiilor genetice specifice, al caracteristicilor tumorii și al modalităților de tratament asupra prognosticului, subliniind importanța planurilor de tratament personalizate pentru a optimiza rezultatele pacientului (Bounous et al., 2022; Lim et al., 2021).

Direcții viitoare și lacune de cercetare

Secțiunea finală a acestui capitol privește viitorul cercetării și tratamentului în cancerul endometrial asociat sindromului Lynch. Acesta identifică terapiile emergente, în special în domeniul imunoterapiei și al agenților moleculari vizați, ca și căi promițătoare pentru îmbunătățirea rezultatelor pacientului. Secțiunea subliniază, de asemenea, întrebările fără răspuns și domeniile în care sunt necesare cercetări suplimentare, cum ar fi optimizarea protocoalelor de supraveghere, înțelegerea mecanismelor de rezistență la imunoterapie și explorarea opțiunilor de conservare a fertilității pentru femeile tinere cu sindrom Lynch. Capitolul se încheie subliniind

necesitatea continuării cercetării pentru a aborda aceste lacune și a promova domeniul sindroamelor canceroase ereditare.

Partea generală a acestei teze oferă o bază detaliată pentru înțelegerea interacțiunii complexe dintre sindromul Lynch și cancerul endometrial. Printr-o explorare a aspectelor genetice, moleculare și clinice ale acestor afecțiuni, capitolele au pus baza contribuțiilor originale care urmează și care urmăresc să elucideze în continuare provocările și oportunitățile în gestionarea cancerului endometrial în contextul sindromului Lynch, străduindu-se în cele din urmă să îmbunătățească rezultatele pacienților și să ghideze cercetările viitoare în domeniu.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul 3. Ipoteze de lucru și obiective generale

Ipoteza centrală care conduce această cercetare doctorală este că o analiză genomică cuprinzătoare, care integrează atât mutațiile germinale, cât și mutațiile somatice, ne poate îmbunătăți în mod semnificativ înțelegerea mecanismelor moleculare care stau la baza cancerului endometrial, în special la pacienții cu sindrom Lynch. Se presupune că, prin identificarea modificărilor genetice cheie prin secvențierea întregului exom (WES), această cercetare va descoperi mutații acționabile care pot fi vizate pentru terapie personalizată, îmbunătățind astfel rezultatele pacientului. În plus, este de așteptat ca această abordare integrată să dezvăluie căi genetice comune și distincte implicate în cancerele endometriale și colorectale asociate cu sindromul Lynch, oferind perspective care ar putea duce la o mai bună stratificare a riscului și strategii de management.

Obiective generale

1. Explorarea peisajului genetic al cancerului endometrial în contextul sindromului Lynch

Primul obiectiv este de a efectua o analiză detaliată a modificărilor genetice în cancerul endometrial asociat cu sindromul Lynch, concentrându-se atât pe mutațiile germinale, cât și pe cele somatice. Aceasta implică utilizarea WES pentru a identifica mutațiile genelor cheie, în special cele de reparare a erorilor de împerechere (MMR) a ADN-ului, dar și alte căi implicate în

tumorigeneză. Scopul este de a înțelege modul în care aceste modificări genetice contribuie la dezvoltarea și progresia cancerului la pacienții cu sindrom Lynch.

2. Identificarea mutațiilor relevante farmacologic în cancerul endometrial

Al doilea obiectiv este de a identifica și caracteriza mutațiile în oncogene și gene supresoare tumorale care sunt acționabile, ceea ce înseamnă că pot fi vizate de terapiile existente sau cele în curs de investigație. Prin utilizarea datelor WES, acest obiectiv își propune să descopere modificări genetice care ar putea ghida strategii de tratament personalizate, îmbunătățind astfel managementul clinic al cancerului endometrial. O atenție specială este acordată mutațiilor în gene precum PIK3CA, PTEN, KRAS și ARID1A, care au roluri stabilite în biologia cancerului și potențiale implicații terapeutice.

3. Compararea profilurilor genomice ale cancerelor endometriale și colorectale asociate sindromului Lynch

Al treilea obiectiv este de a efectua o analiză comparativă a profilurilor genomice ale cancerelor endometriale și colorectale la pacienții cu sindrom Lynch. Acest obiectiv urmărește să identifice căi genetice comune și unice care conduc tumorigeneza în aceste două tipuri de cancer, care sunt asociate în mod obișnuit cu sindromul Lynch. Înțelegerea acestor relații ar putea duce la dezvoltarea unor strategii de supraveghere și tratament combinate sau adaptate pentru pacienții cu sindrom Lynch.

Aceste obiective au fost formulate pentru a ghida cercetarea în descoperirea de noi perspective asupra bazei genetice a cancerului endometrial, cu un accent deosebit pe sindromul Lynch, și pentru a explora potențialul medicinei personalizate de a îmbunătăți îngrijirea pacientului. Prin aceste obiective, cercetarea își propune să contribuie semnificativ la domeniul oncologiei ginecologice și la aplicarea mai largă a medicinei de precizie în tratamentul cancerului.

Capitolul 4. Mutații somatice și germinale în cancerul de endometru

Acest studiu abordează peisajul genetic complex al cancerului endometrial, concentrându-se atât pe mutațiile somatice, cât și pe cele germinale. În timp ce mutațiile individuale ale unor gene precum PTEN, PIK3CA și MMR au fost studiate pe scară largă, analizele cuprinzătoare care compară mutațiile somatice și germinale în cadrul aceleiași cohorte sunt limitate. Prin urmare,

acest studiu își propune să ofere o comparație detaliată a acestor mutații folosind datele de secvențiere a exomului (WES) atât din probele tumorale, cât și din probele de sânge la pacienții cu cancer endometrial confirmat histologic. Cancerul endometrial este cea mai frecventă afecțiune ginecologică malignă în țările dezvoltate, cu o incidență în creștere, parțial datorită prevalenței în creștere a factorilor de risc, cum ar fi obezitatea, hipertensiunea și diabetul. În timp ce majoritatea cazurilor sunt diagnosticate într-un stadiu incipient și au un prognostic favorabil, o proporție semnificativă prezintă o boală avansată, care este asociată cu rezultate slabe. Factorii genetici joacă un rol crucial în dezvoltarea cancerului endometrial, atât mutațiile germinale, cât și cele somatice contribuind la patogeneza acestuia. Progresele recente în tehnologiile genomice au facilitat identificarea numeroaselor mutații somatice și germinale asociate cu cancerul endometrial. Acest studiu utilizează WES pentru a identifica și compara aceste mutații, cu scopul de a avansa înțelegerea bazei genetice a cancerului endometrial și de a informa dezvoltarea de terapii țintite.

Materiale și metode

Treisprezece paciente de sex feminin cu cancer endometrial confirmat histologic au fost selectate pentru acest studiu. Criteriile de includere au impus ca pacientele să aibă un diagnostic confirmat pe baza examenului histopatologic, niciun tratament anterior pentru cancerul endometrial și un istoric familial de cancere asociate cu sindromul Lynch. Criteriile de excludere au inclus tratamente anterioare pentru cancer, boala metastatică la diagnostic și calitatea inadecvată a probei.

Considerațiile etice au fost respectate cu rigurozitate, cu aprobarea studiului de către Comitetul de Etică al Institutului Național pentru Sănătatea Mamei și Copilului Alessandrescu Rusescu, București, România. Toți pacienții au furnizat consimțământul informat scris pentru participare, inclusiv testarea genetică și utilizarea probelor lor pentru cercetare. Au fost recoltate probe de sânge și țesut tumoral, cu ADN extras folosind protocoale standardizate. S-a efectuat WES pe ADN-ul extras, iar analiza bioinformatică ulterioară a fost efectuată pentru a identifica și adnota variantele somatice și germinale. Analiza statistică a fost utilizată pentru a compara frecvența și tipul mutațiilor dintre linia germinativă și probele somatice.

Rezultate

Au fost identificate un total de 731 de variante, cu 329 de mutații pe linie germinativă și 402 mutații somatice. Mutațiile germinale au fost găsite în principal în genele de reparare a ADN-ului, cum ar fi MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 și BRCA1/2, în timp ce mutațiile somatice au fost mai răspândite în genele implicate în reglarea ciclului celular, transducția semnalului și remodelarea cromatinei, inclusiv TP53, PTEN, PIK3CA, ARID1A și KRAS. Analiza a evidențiat diferențe semnificative în numărul și tipurile de variante între probele germinale și cele somatice. Probele somatice au prezentat o sarcină mutațională mai mare, reflectând instabilitatea genomică caracteristică celulelor tumorale. Cele mai frecvente mutații ale liniei germinale au fost găsite în genele de reparare a ADN-ului, în concordanță cu rolul lor în predispoziția ereditară la cancer. Mutațiile somatice au fost găsite predominant în genele asociate cu progresia tumorii și metastaze.

Discuții

Acest studiu oferă o comparație cuprinzătoare a mutațiilor somatice și germinale în cancerul endometrial, utilizând datele WES din probele de tumoră și sangvine. Numărul mai mare de mutații somatice subliniază instabilitatea genomică a celulelor tumorale, în timp ce prevalența mutațiilor germinale în genele de reparare a ADN-ului evidențiază importanța predispoziției moștenite în cancerul endometrial. Descoperirile sugerează că integrarea datelor asupra liniei germinale și mutațiilor somatice ne poate îmbunătăți înțelegerea bazei genetice a cancerului endometrial și poate informa dezvoltarea strategiilor de tratament personalizate. Identificarea de noi variante, în special în oncogene-cheie și gene supresoare tumorale, oferă ținte potențiale pentru intervenția terapeutică și subliniază necesitatea unor cercetări suplimentare asupra impactului lor funcțional.

Concluzii

Acest studiu avansează înțelegerea peisajului genetic al cancerului endometrial prin identificarea și compararea mutațiilor somatice și germinale. Descoperirile evidențiază rolurile distincte ale mutațiilor moștenite și dobândite în dezvoltarea și progresia cancerului, cu implicații pentru testarea genetică, stratificarea riscului și terapia țintită. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a valida aceste constatări și a explora potențialele lor aplicații clinice.

Capitolul 5. Identificarea mutațiilor relevante din punct de vedere farmacologic în cancerul de endometru prin secvențierea întregului exom a probelor tumorale FFPE

Cancerul endometrial, una dintre cele mai frecvente malignități ginecologice, prezintă un profil heterogen genetic, evidențiind necesitatea unor abordări terapeutice personalizate. În acest studiu, am efectuat WES pe secțiuni tumorale din blocuri de parafină (FFPE) de la 13 paciente cu cancer endometrial confirmat histologic. Scopul principal este de a identifica mutații relevante din punct de vedere farmacologic în oncogene-cheie și gene supresoare tumorale, inclusiv PIK3CA, PTEN, KRAS, ARID1A, TP53, precum și genele MMR, cum ar fi MLH1 și MSH2. Concentrându-se pe mutațiile acționabile - cele care fie direct pot fi vizate de medicamentele existente, fie ar putea ghida eligibilitatea pentru studiile clinice - acest studiu demonstrează utilitatea WES în informarea managementului personalizat al cancerului și subliniază importanța integrării datelor genomice în practica clinică de rutină. Incidența în creștere a cancerului endometrial la nivel global, alimentată de ratele în creștere a obezității și de o populație îmbătrânită, subliniază necesitatea unor strategii îmbunătățite de management, în special pentru bolile avansate și recurente. Progresele recente în tehnologiile genomice au dezvoltat subtipuri moleculare distincte de cancer endometrial, fiecare asociat cu rezultate clinice unice și vulnerabilități terapeutice. WES, care captează regiunile de codificare ale genomului în care apar cele mai multe mutații care cauzează boli, a devenit un instrument puternic în identificarea mutațiilor cheie care conduc la tumorigeneză și în ghidarea dezvoltării terapiei țintite.

În ciuda potențialului său, aplicarea WES în practica clinică de rutină rămâne limitată, în special atunci când se utilizează probe FFPE, care sunt disponibile în mod obișnuit, dar prezintă provocări din cauza degradării ADN-ului. Acest studiu încearcă să demonstreze că WES este fezabil și valoros în acest context, oferind o cale către o terapie mai eficientă și individualizată pentru pacienții cu cancer endometrial.

Materiale și metode

Acest studiu a inclus 13 paciente de sex feminin cu cancer endometrial endometrioid confirmat histologic, selectate pe baza unor criterii stricte de includere și excludere pentru a asigura un eșantion relevant și reprezentativ din punct de vedere clinic pentru analiza WES. Probele de

tumora FFPE au fost colectate și procesate conform protocoalelor standard pentru a asigura integritatea și calitatea ADN-ului extras pentru WES. Procesul a inclus secționarea țesuturilor, extracția ADN-ului, controlul calității și secvențierea cu ajutorul platformei Illumina. Studiul a evaluat, de asemenea, potențialele implicații terapeutice ale acestor mutații, luând în considerare terapiile țintite existente și studiile clinice în curs.

Rezultate și discuții

Analiza WES a identificat un peisaj mutațional divers la pacientele cu cancer endometrial incluse în studiu, cu un total de 352 de variante unice, inclusiv SNV, inserții și deleții (indels). Genele cheie mutate frecvent în întreaga cohortă au inclus PIK3CA, PTEN, ARID1A, KRAS, FGFR2, TP53, MLH1 și MSH2. În special, mutațiile PIK3CA au fost cele mai frecvente, identificate la 8 pacienți, urmate de mutațiile PTEN la 6 pacienți și mutațiile KRAS la 4 pacienți.

Mutațiile PIK3CA, în special mutația hotspot p.His1047Arg, au fost găsite la mai mulți pacienți, evidențiind rolul central al căii PI3K/AKT/mTOR în patogenia cancerului endometrial. Aceste mutații sugerează că pacienții ar putea beneficia de inhibitori ai PI3K, cum ar fi alpelisib, care este deja aprobat pentru utilizare în cancerul de sân cu mutații PIK3CA. PTEN, o genă supresoare tumorală care reglează negativ calea PI3K/AKT/mTOR, a fost, de asemenea, frecvent mutată. Pierderea funcției PTEN, din cauza mutațiilor missense, duce la proliferarea celulară necontrolată, sugerând că terapiile precum inhibitorii mTOR (de exemplu, everolimus), ar putea fi eficiente la acești pacienți. ARID1A, implicată în remodelarea cromatinei, a suferit mutații la 5 pacienți, cu mai multe mutații clasificate drept patogene. Pierderea funcției ARID1A este asociată cu un prognostic prost și cu un comportament agresiv al tumorii, indicând necesitatea unor abordări terapeutice țintite, care pot implica modificatori epigenetici, cum ar fi inhibitorii EZH2. Mutațiile KRAS, găsite la 4 pacienți, sunt în mod tradițional dificil de vizat, dar dezvoltarea recentă a inhibitorilor KRAS G12C oferă noi oportunități terapeutice, chiar dacă această mutație specifică nu a fost identificată în cohortă. Mutațiile genelor MMR, identificate la 2 pacienți, sunt legate de instabilitatea microsateliților (MSI) și de un răspuns favorabil la inhibitorii punctelor de control imune, cum ar fi pembrolizumab. Aceste descoperiri susțin utilizarea imunoterapiei în cancerule endometriale cu MSI ridicate, aliniindu-se cu practicile clinice actuale.

Studiul subliniază relevanța clinică a acestor mutații, în special în ghidarea strategiilor de tratament personalizate. De exemplu, pacienții cu mutații PIK3CA ar putea beneficia de inhibitori

PI3K, în timp ce cei cu mutații ARID1A ar putea fi candidați pentru studiile clinice care implică terapii epigenetice. Identificarea mutațiilor genei MMR sprijină în continuare integrarea imunoterapiei în schemele de tratament pentru acești pacienți.

Concluzii

Acest studiu subliniază potențialul de transformare al WES în identificarea mutațiilor acționabile în cancerul endometrial, deschizând calea pentru strategii terapeutice personalizate. Identificarea mutațiilor cheie în gene precum genele PIK3CA, PTEN, KRAS, ARID1A și MMR oferă oportunități specifice de tratament, inclusiv utilizarea de terapii țintite și imunoterapie. Descoperirile evidențiază WES ca un instrument valoros în oncologia de precizie, conducând dezvoltarea de terapii țintite și avansând standardul de îngrijire în cancerul endometrial. Acest studiu contribuie, de asemenea, la cantitatea tot mai mare de dovezi care susțin integrarea datelor genomice în luarea deciziilor clinice de rutină, cu potențialul de a îmbunătăți în mod semnificativ rezultatele pacienților.

Capitolul 6. Variante genomice asociate sindromului Lynch

Al treilea studiu se concentrează pe înțelegerea peisajului genetic al cancerului endometrial în contextul sindromului Lynch, o afecțiune ereditară caracterizată prin mutații ale liniei germinale în genele MMR. Sindromul Lynch crește semnificativ riscul de a dezvolta diferite tipuri de cancer, inclusiv cancerul endometrial și colorectal. În ciuda rolului stabilit al deficienței MMR în tumorigeneză, modificările genomice specifice care conduc la cancerul endometrial asociat sindromului Lynch și suprapunerea lor cu cancerul colorectal rămân incomplet înțelese. Acest studiu își propune să umple acest gol prin efectuarea unei analize comparative detaliate a mutațiilor germinale și somatice în cancerul endometrial asociat cu sindromul Lynch. Secvențierea întregului exom (WES) a fost efectuată atât pe linia germinativă, cât și pe ADN-ul somatic de la 13 paciente diagnosticate cu cancer endometrial asociat sindromului Lynch.

Materiale și metode

Acest studiu a implicat 13 paciente de sex feminin diagnosticate cu cancer endometrial, cu vârste cuprinse între 47 și 75 de ani, cu o vârstă medie de 60 de ani la diagnosticare. Toate

pacientele aveau cancer endometrial confirmat histopatologic, iar stadializarea tumorii a fost efectuată conform sistemului FIGO. Tumorile au fost clasificate uniform ca adenocarcinom endometrioid, cel mai frecvent subtip histologic asociat cu sindromul Lynch în cancerul endometrial. Au fost colectate probe de sânge pentru extracția ADN-ului din linia germinativă, iar probele FFPE au fost utilizate pentru extracția somatică a ADN-ului. WES a fost efectuat atât pe linia germinativă, cât și pe ADN-ul somatic. Analiza bioinformatică s-a concentrat pe potențialul lor patogenitate și relevanță atât pentru cancerul endometrial, cât și pentru cancerul colorectal.

Rezultate

Analiza WES a relevat o gamă largă de variante genomice care contribuie la patogeneza cancerului endometrial în contextul sindromului Lynch. Au fost identificate un total de 1.118 de linii germinale și 14.051 de variante somatice, 493 de variante fiind comune ambelor. Aceste variante comune au evidențiat atât rolul predispoziției moștenite, cât și al tumorigenezei somatice în dezvoltarea cancerului. Studiul a confirmat prezența mutațiilor patogene în genele MMR, cum ar fi MLH1, MSH2 și MSH6, care sunt critice în sindromul Lynch. În special, mutații somatice frecvente au fost identificate în PIK3CA și PTEN, implicând calea PI3K/AKT/mTOR ca un factor oncogen cheie în aceste tipuri de cancer. În plus, noi mutații somatice au fost descoperite în gene legate de matricea extracelulară (ECM), cum ar fi FBN1 și SPARC, sugerând un rol unic în progresia tumorii endometriale.

Discuții

Acest studiu oferă noi perspective asupra bazei moleculare a cancerului endometrial asociat sindromului Lynch, subliniind suprapunerea căilor oncogene cu cancerul colorectal. Identificarea mutațiilor genetice comune și unice subliniază importanța dezvoltării strategiilor de tratament combinate care vizează aceste mutații specifice. Mutațiile frecvente ale PIK3CA și PTEN indică calea PI3K/AKT/mTOR ca o țintă terapeutică critică, în timp ce descoperiri noi în genele legate de ECM, cum ar fi FBN1 și SPARC, sugerează căi suplimentare de tratament.

Studiul subliniază, de asemenea, importanța integrării datelor asupra liniei germinale și mutațiilor somatice pentru a înțelege pe deplin tumorigeneza în cancerule asociate cu sindromul Lynch. Această abordare integrată nu numai că avansează înțelegerea bolii, dar are și implicații

semnificative pentru dezvoltarea de strategii de tratament personalizate care ar putea îmbunătăți rezultatele pentru pacienții cu sindrom Lynch.

Concluzii

Acest studiu avansează semnificativ înțelegerea peisajului genomic al cancerului endometrial în sindromul Lynch, dezvăluind asemănări și diferențe cheie cu cancerul colorectal în acest context. Descoperirile evidențiază rolul critic al mutațiilor genei MMR în conducerea tumorigenezei și sugerează că țintirea căii PI3K/AKT/mTOR ar putea fi deosebit de eficientă în tratarea acestor tipuri de cancer. În plus, descoperirea de noi mutații în genele legate de ECM deschide noi căi pentru cercetare și terapie. Aceste perspective subliniază potențialul pentru strategii de tratament personalizate care iau în considerare atât mutațiile germinale, cât și mutațiile somatice, urmărind în cele din urmă îmbunătățirea rezultatelor pentru pacienții cu sindrom Lynch.

CONCLUZII

Această teză de doctorat reprezintă o contribuție semnificativă în domeniul oncologiei ginecologice, în special în înțelegerea peisajului genetic complex al cancerului endometrial în contextul sindromului Lynch. Prin trei studii cuprinzătoare, această cercetare a oferit perspective critice asupra factorilor moleculari ai cancerului endometrial, a identificat mutații genetice acționabile care pot informa strategiile de tratament personalizate și a evidențiat suprapunerile genetice dintre cancerurile asociate cu sindromul Lynch. Aceste descoperiri nu numai că ne avansează înțelegerea bolii, dar ne deschid și calea pentru terapii mai bine direcționate și mai eficiente, îmbunătățind în cele din urmă rezultatele pacienților.

Primul studiu a evidențiat legătura complexă dintre mutațiile somatice și cele germinale în cancerul endometrial, dezvăluind rolul semnificativ al predispozițiilor genetice moștenite alături de alterările specifice tumorii. Prin compararea acestor mutații, cercetarea a subliniat importanța luării în considerare a ambelor origini genetice atunci când se dezvoltă planuri de tratament personalizate. Această abordare cuprinzătoare îmbunătățește înțelegerea noastră asupra bolii și informează dezvoltarea unor strategii terapeutice mai eficiente.

Al doilea studiu a folosit secvențierea întregului exom (WES) pentru a identifica mutațiile relevante farmacologic în cancerul endometrial, subliniind utilitatea profilării genomice în practica clinică. Identificarea mutațiilor cheie în gene, cum ar fi PIK3CA, PTEN și KRAS, a oferit ținte acționabile pentru terapiile existente și de investigație, demonstrând fezabilitatea și valoarea integrării WES în îngrijirea oncologică de rutină. Acest studiu nu numai că contribuie la numărul tot mai mare de dovezi care susțin oncologia de precizie, dar subliniază și potențialul WES de a revoluționa tratamentul cancerului endometrial.

Cel de-al treilea studiu s-a concentrat pe cancerul endometrial asociat sindromului Lynch, oferind noi perspective asupra profilului genetic unic al acestor tumori și implicațiile lor pentru gestionarea pacientului. Prin identificarea mutațiilor noi și explorarea semnificației lor clinice, această cercetare ne-a extins cunoștințele despre modul în care sindromul Lynch determină dezvoltarea și progresia cancerului. Descoperirile studiului subliniază importanța strategiilor de tratament personalizate care iau în considerare atât factorii genetici moșteniți, cât și cei dobândiți, oferind noi căi pentru îmbunătățirea îngrijirii pacienților cu sindrom Lynch.

Implicațiile tehnice și economice ale acestei cercetări sunt semnificative. Adoptarea WES în practica clinică de rutină oferă avantaje substanțiale, inclusiv capacitatea de a identifica mutații acționabile care pot ghida strategii de tratament personalizate, conducând la rezultate mai bune pentru pacient și la o utilizare mai eficientă a resurselor de asistență medicală. Mai mult, integrarea datelor genomice în luarea deciziilor clinice are potențialul de a reduce abordarea prin încercare și eroare în tratamentul cancerului, reducând astfel costurile asociate cu terapiile ineficiente. Cu toate acestea, există și provocări de luat în considerare. Costurile inițiale ale implementării WES, inclusiv infrastructura, instruirea și analiza continuă a datelor, pot fi substanțiale, în special în medii cu resurse limitate. În plus, interpretarea datelor genomice complexe necesită expertiză specializată, care este posibil să nu fie ușor disponibilă în toate setările clinice. Aceste bariere economice și logistice trebuie abordate pentru a realiza pe deplin beneficiile medicinei genomice în oncologie. De asemenea, impactul pe termen lung al integrării WES în practica clinică de rutină, în special în ceea ce privește rezultatele pacienților și costurile asistenței medicale, necesită o explorare suplimentară. În plus, utilitatea clinică a noilor mutații identificate în cancerul endometrial asociat sindromului Lynch necesită validare prin studii mai ample. Înțelegerea implicațiilor funcționale ale acestor mutații și potențialul lor ca ținte terapeutice este un următor pas critic. Cercetările viitoare ar trebui să se concentreze pe perfecționarea utilizării WES în medii clinice, explorând aplicarea acestuia în diverse populații și diferite tipuri de cancer. De asemenea, este nevoie de a dezvolta instrumente bioinformatiche robuste și ghiduri clinice pentru a sprijini interpretarea datelor genomice și integrarea acestora în planuri de tratament personalizate. Mai mult, investigarea rolului factorilor de mediu și al stilului de viață în modularea efectelor mutațiilor genetice ar putea oferi o abordare mai holistică a prevenirii și tratamentului cancerului.

Această teză de doctorat a adus contribuții substanțiale în domeniul cercetării cancerului endometrial, în special în contextul sindromului Lynch. Prin integrarea tehnologiilor genomice avansate cu accent pe aplicabilitatea clinică, această lucrare nu numai că ne-a îmbunătățit înțelegerea bazelor genetice ale cancerului endometrial, dar a oferit și o bază solidă pentru dezvoltarea strategiilor de tratament personalizate. Pe măsură ce domeniul oncologiei de precizie continuă să evolueze, descoperirile din această cercetare vor juca, fără îndoială, un rol crucial în modelarea viitorului îngrijirii cancerului, oferind noi speranțe pacienților și progresând știința oncologiei.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Tamura, K., Kaneda, M., Futagawa, M., Takeshita, M., Kim, S., Nakama, M., Kawashita, N., & Tatsumi-Miyajima, J. (2019). Genetic and genomic basis of the mismatch repair system involved in Lynch syndrome. *International journal of clinical oncology*, 24(9), 999–1011. <https://doi.org/10.1007/s10147-019-01494-y>
2. Trujillo-Rojas, M. A., Ayala-Madrigal, M. L., Gutiérrez-Angulo, M., González-Mercado, A., & Moreno-Ortiz, J. M. (2023). Diagnosis of patients with Lynch syndrome lacking the Amsterdam II or Bethesda criteria. *Hereditary cancer in clinical practice*, 21(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s13053-023-00266-0>
3. Bellone, S., Roque, D. M., Siegel, E. R., Buza, N., Hui, P., Bonazzoli, E., Guglielmi, A., Zammataro, L., Nagarkatti, N., Zaidi, S., Lee, J., Silasi, D. A., Huang, G. S., Andikyan, V., Damast, S., Clark, M., Azodi, M., Schwartz, P. E., Tymon-Rosario, J. R., Harold, J. A., ... Santin, A. D. (2022). A phase 2 evaluation of pembrolizumab for recurrent Lynch-like versus sporadic endometrial cancers with microsatellite instability. *Cancer*, 128(6), 1206–1218. <https://doi.org/10.1002/cncr.34025>
4. Møller, P., Seppälä, T., Bernstein, I. et al. Mallorca Group (<http://mallorca-group.eu>) (2017). Cancer incidence and survival in Lynch syndrome patients receiving colonoscopic and gynaecological surveillance: first report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut*, 66(3), 464–472. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309675>
5. Capasso, I., Santoro, A., Lucci Cordisco, E., et al. (2023). Lynch Syndrome and Gynecologic Tumors: Incidence, Prophylaxis, and Management of Patients with Cancer. *Cancers*, 15(5), 1400. <https://doi.org/10.3390/cancers15051400>
6. Meyer LA, Broaddus RR, Lu KH. Endometrial cancer and Lynch syndrome: clinical and pathologic considerations. *Cancer Control*. 2009;16(1):14-22. doi:10.1177/107327480901600103
7. Roudko, V., Cimen Bozkus, C., Greenbaum, B., Lucas, A., Samstein, R., & Bhardwaj, N. (2021). Lynch Syndrome and MSI-H Cancers: From Mechanisms to "Off-The-Shelf" Cancer Vaccines. *Frontiers in immunology*, 12, 757804. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.757804>
8. Rosty C, Clendenning M, Walsh MD, et al. Germline mutations in PMS2 and MLH1 in individuals with solitary loss of PMS2 expression in colorectal carcinomas from the Colon

Cancer Family Registry Cohort. *BMJ Open*. 2016;6(2):e010293. Published 2016 Feb 19. doi:10.1136/bmjopen-2015-010293

9. Nádorvári, M.L., Kenessey, I., Kiss, A. *et al.* Comparison of standard mismatch repair deficiency and microsatellite instability tests in a large cancer series. *J Transl Med* **22**, 150 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12967-024-04960-y>
10. Özdemir TR, Alan M, Sancı M, Koç A. Targeted Next-Generation Sequencing of MLH1, MSH2, and MSH6 Genes in Patients with Endometrial Carcinoma under 50 Years of Age. *Balkan Med J*. 2019;36(1):37-42. doi:10.4274/balkanmedj.2018.0922
11. Touhami, O., Grégoire, J., Renaud, M. C., Sebastianelli, A., & Plante, M. (2017). Performance of sentinel lymph node (SLN) mapping in high-risk endometrial cancer. *Gynecologic oncology*, 147(3), 549–553. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.09.014>
12. Latham, A., Srinivasan, P., Kemel, Y., Shia, J., Bandlamudi, C., Mandelker, D., Middha, S., Hechtman, J., Zehir, A., Dubard-Gault, M., Tran, C., Stewart, C., Sheehan, M., Penson, A., DeLair, D., Yaeger, R., Vijai, J., Mukherjee, S., Galle, J., Dickson, M. A., ... Stadler, Z. K. (2019). Microsatellite Instability Is Associated With the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 37(4), 286–295. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00283>
13. Ryan NA, McMahon RF, Ramchander NC, Seif MW, Evans DG, Crosbie EJ. Lynch syndrome for the gynaecologist. *Obstet Gynaecol*. 2021;23(1):9-20. doi:10.1111/tog.12706
14. Lim WZ, Hemann ZA, Kemp WL. Educational Case: Hereditary Colorectal Cancer and Association With Endometrial Carcinoma. *Acad Pathol*. 2021;8:23742895211028996. Published 2021 Jul 27. doi:10.1177/23742895211028996
15. Bounous VE, Robba E, Perotto S, et al. Gynecological Cancers in Lynch Syndrome: A Comparison of the Histological Features with Sporadic Cases of the General Population. *J Clin Med*. 2022;11(13):3689. Published 2022 Jun 27. doi:10.3390/jcm11133689

LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE DIN CONȚINUTUL TEZEI DOCTORALE

1. (ISI) Journal Impact Factor 2.1

Botea R, Piron-Dumitrascu M, Georgescu TA, Bohiltea CL, Voinea SC, Varlas VN, Iacoban SR, Suciu N. Lynch Syndrome-Associated Genomic Variants. Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases (JGLD). 2024 <https://www.jgld.ro/jgld/index.php/jgld>

2. (ISI) Journal Impact Factor 1.6

Botea R, Piron-Dumitrascu M, Georgescu TA, Voinea SC, Varlas VN, Iacoban SR, Suciu N. Identification of pharmacologically relevant mutations in endometrial cancer by whole-exome sequencing of FFPE tumor samples. Farmacia. 2024; <https://farmaciajournal.com/>

3. (BDI) PubMed

Botea R, Piron-Dumitrascu M, Georgescu TA, Bohiltea CL, Voinea SC, Varlas VN, Iacoban SR, Suciu N. Somatic and germline mutations in endometrial cancer. Journal of Medicine and Life. 2024 Jun; 17(6):1-10. doi: 10.25122/jml-2024-0313 <https://medandlife.org/issues/>