

**ANALIZA COMPARATIVĂ ALE EXPRESIEI GENEI BRCA1
LA PACIENTELE CU CANCER MAMAR ŞI DIABET ZAHARAT ASOCIAT**

**Diana Tcaciuc – doctorand, colaborator științific stagiar, IMSP Institutul Oncologic,
Larisa Sofroni – doctor habilitat în medicină, conferențiar cercetător
IMSP Institutul Oncologic**

bargandiana@rambler.ru, 079359639, sofronilarisa@yandex.ru, 069187553

Rezumat

Istoricul familial reprezintă o condiție non-modificabilă de risc pentru dezvoltarea cancerului mamar manifestând unele asociații familiale și genetice. Cercetarea intensă în oncologie experimentală și biologie moleculară din ultimele

decenii a extins foarte mult cunoștințele despre factorii genetici care predispon la dezvoltarea cancerului mamar și înțelegerea mecanismelor genetice ale carcinogenezei. Scopul studiului a constat în efectuarea unei analize comparative ale expresiei genei BRCA1 la pacienții cu cancer mamar asociat diabetului zaharat. În studiu au fost incluse 82 de pacienți cu CGM cu și fără DZ, care au fost diagnosticate și au primit tratament specific în IMSP IO în perioada anilor 2010-2013 cu vârsta medie $53,41 \pm 0,27$ ani. Aprecierea mutației în gena BRCA1 în lotul pacienților cu CGM și DZ tip 2 a prezentat diferențe statistic veridice, față de cele fără DZ (23,4% versus 8,57%; $p < 0,01$).

Cuvinte-cheie: cancer mamar, diabet zaharat, BRCA1 15382ins

Summary. Comparative analysis of gene expression BRCA1 mutation 15382ins in breast cancer associated with diabetes mellitus tip 2.

Family history is a unmodifiable risk factor for breast cancer development, manifesting some genetic and family associations. Intense research made in experimental oncology and molecular biology in the last decade have extended knowledge on genetical factors that predispose individuals to breast cancer and understanding the genetical mechanisms of carcinogenesis. The objective of the study was to undertake a comparative analysis of the expression of BRCA1 gene in patients with breast cancer associated with diabetes mellitus. 82 breast cancer patients with and without diabetes mellitus were included in the study; that have been diagnosed and have received specific treatment in the Oncological Institute, between 2010 and 2013, with an average age $53,41 \pm 0,27$ yrs. The assessment of the mutation in BRCA1 gene in the group of patients with breast cancer and diabetes mellitus type 2 has presented truthful statistical differences, in comparison with patients without diabetes mellitus (23,4% versus 8,57%; $p < 0,01$).

Key words: breast cancer, BRCA1 15382ins, diabetes mellitus

Резюме. Сравнительный анализ экспрессии мутации гена BRCA1 15382ins при раке молочной железы в ассоциации с сахарным диабетом.

Семейная история является одним из факторов риска для неизменяемых развития рака молочной железы, проявляющийся некоторые генетические и семейные ассоциации. Интенсивные исследования, проведенного в экспериментальной онкологии и молекулярной биологии в последние десятилетия расширили знания о генетических факторов, которые предрасполагают лиц к раку молочной железы и понимание генетических механизмов carcinogenesis. Цель исследования заключалась в проведении сравнительного анализа экспрессии гена BRCA1 у больных с раком молочной железы, связанных с сахарным диабетом. 82 больных раком молочной железы с и без сахарного диабета были включены в исследование, которые были диагностированы и получили специфическое лечение в онкологическом институте, с 2010 по 2013 год, при этом средний возраст $53,41 \pm 0,27$ лет. Оценка мутации в гене BRCA1 в группе пациентов с раком молочной железы и сахарным диабетом типа 2 подарил правдивой статистических различий, по сравнению с пациентами без сахарного диабета (23,4% против 8,57%, $p < 0,01$).

Ключевые слова: рак молочной железы, BRCA1 15382ins, сахарный диабет

Introducere. Cancerul glandelor mamare (CGM) este una dintre cele mai importante preocupări în rândul femeilor din întreaga lume, fiind cel mai frecvent tip de cancer în rândul femeilor din țările dezvoltate și afectează 1 din fiecare a 8 femeie (13%), incidența cumulativă în Europa de Vest și SUA este aproximativ 3,7% la 55 de ani, 5,0% la 65 de ani, și 7,7% la 75 de ani, fiind în continuă creștere [1]. În 2010, incidența CGM a prezentat peste un milion de cazuri la nivel mondial și, în fiecare an, mai mult de 400.000 de femei decedează din cauza bolii. Ca o problemă de sănătate publică, incidența CGM este în continuă creștere, rata CGM fiind de aproximativ 18% din toate cazurile de cancer la populația feminină din întreaga lume. Există un număr estimat de 4,4 milioane de supraviețuitori de până la 5 ani din momentul stabilirii diagnosticului bolii [1].

Incidența diabetului zaharat (DZ) și a cancerului glandelor mamare (CGM) a crescut pe parcursul ultimelor decenii, în paralel cu epidemia de obezitate. La

începutul secolului al XXI-lea Institutul Internațional de Diabet (IDI) a relatat o ascensiune a morbidității DZ de la 5,6, în 1980 mln până la 20,9 mln în 2012 [2], prognozând o creștere vertiginoasă a numărului de cazuri până la 324 mln către anul 2025 [3]. Ultimele decenii au fost martore ale unei creșteri importante a incidenței atât a DZ, cât și a sindromului metabolic. Această tendință prezintă legități constante și anume: se păstrează prevalența netă a DZ tip 2 (DZ 2) vis-a-vis de DZ tip 1; se manifestă consolidarea pozițiilor DZ 2 în grupul pacienților de vârstă înaintată, dar și "întinerirea" considerabilă a patologiei; această epidemie de DZ, în esență, este stimulată de majorarea paralelă a "presului glucidic" – glycemic load (ce reprezintă produsul indicelui glicemic al alimentelor și cantitatea glucidelor din produsele alimentare), cât și de creșterea considerabilă a numărului de persoane supraponderale. În prezent DZ tip 2 afectează mai mult de 7% din populația adultă din țările dezvoltate ale lumii.

Tabelul 1

Formele clinice și răspândirea loco-regională ale CGM la pacientele cu și fără DZ.

		CGM cu DZ tip 2 (n=47)		CGM fără DZ tip 2 (n=35)		p
		n	%	N	%	
Formele clinice	Nodulară	41	87,2	33	94,29	>0,05
	Difuze	6	12,8	1	2,86	<0,05
	Paget	0	0	1	2,86	>0,05
Cadran sup-ext		37	78,7	29	82,86	>0,05
Cadran inf-ext		3	6,38	1	2,86	>0,05
Cadran sup-int		4	8,51	2	5,71	>0,05
Cadran inf-int		3	6,38	3	8,57	>0,05
G/ I axilari	Nod +	28	59,6	16	45,71	<0,05
	Nod -	19	40,4	19	54,29	<0,05

Istoricul familial reprezintă o condiție non-modificabilă de risc pentru dezvoltarea cancerului mamar manifestând unele asociații familiale și genetice [4]. Cercetarea intensă în oncologia experimentală și biologie moleculară din ultimele decenii a extins foarte mult cunoștințele despre factorii genetici care predispun la dezvoltarea cancerului mamar și înțelegerea mecanismelor genetice ale carcinogenezei [5].

Forme genetice determinate pot fi presupuse în cazurile în care se identifică două sau mai multe rude de gradul I-II, vârsta tânără a pacientei la debutul bolii (40-45 de ani), CGM bilateral, cancer primar multiplu la pacientă sau rudele ei [6].

În prezent, este cunoscut faptul că 5-18% din cazurile de CGM sunt ereditare, dezvoltarea lor fiind asociată cu mutațiile germinale înalt penetrante în genele BRCA1 și BRCA2 care predispun la dezvoltarea cancerului mamar, ambele gene cresc riscul de cancer către vârsta de 80 de ani la 80-85% [7].

Scopul studiului a constat în efectuarea unei analize comparative ale expresiei genei BRCA1 la pacientele cu cancer mamar și diabet zaharat tip 2.

Material și metode

În studiu au fost incluse 82 de paciente cu CGM cu și fără DZ, care au fost diagnosticate și au primit tratament specific în IMSP IO în perioada anilor 2010-2013 cu vârsta medie $53,41 \pm 0,27$ ani. Pentru determinarea genei BRCA 1 s-a utilizat metoda de imunofenotipare, folosind testele de determinare a ADNului BRCA1 5382 insC în regim de timp real (RQ-PCR). Pentru obținerea rezultatelor au fost utilizate următoarele metode: calcularea ratelor, proporțiilor, valorilor medii, metode de corelație etc.

Rezultate

Lotul de studiu s-a prezentat omogen în ceea ce privește gradul de expresie clinică al cancerului mamar la pacientele cu diabet zaharat. S-a depistat o prevalență a formelor difuze ale CGM la pacientele cu DZ 12,8% vs 2,86% – $p < 0,05$. Repartizarea con-

form răspândirii locoregionale a procesului tumoral a demonstrat o frecvență sporită a formelor avansate la pacientele cu DZ, afectarea ganglionilor limfatici regionali fiind prezentă în 59,6% vs 45,71% – $p < 0,05$, totodată ganglioni negativi s-au depistat în 40,4% vs 54,29% – $p < 0,05$. Efectuând corelarea expresiei BRCA1 la pacientele cu și fără DZ tp 2 am obținut o prevalență a cancerului genetic determinat la pacientele cu DZ (23,4% versus 8,57%; $p < 0,01$).

Analizând repartitia pacientelor după stadializarea procesului malign am observat următoarele tendințe: pacientele cu CGM și DZ sunt depistate mai tardiv, în stadiile locoregionale mai avansate versus pacientele cu CGM fără DZ. Așadar, st. I 2% vs. 6%, st. II A 17% vs. 20%, st. II B 21% vs. 37%, st. III A 26% vs. 26%, st. III B 34% vs. 11%. Considerăm că o prevalență a formelor locoregionale avansate la momentul depistării CGM la pacientele cu DZ ar putea fi explicată prin micro-macroangiopatia diabetică asociată cu polineuropatia diabetică, o combinație între neuropatia periferică și cea autonomă (vegetativă).

Efectuând corelarea expresiei BRCA1 la pacientele cu și fără DZ tp 2 am obținut o prevalență a cancerului genetic determinat la pacientele cu DZ (23,4% versus 8,57%; $p < 0,01$), adică 11 paciente din 47 cu CGM și DZ au prezentat mutația în gena BRCA1 și doar 3 cazuri din 35 de paciente cu CGM fără DZ. Par a fi rezultate intrigante și necesită continuarea studiului.

Tabelul 2

Expresia genei BRCA1 la pacientele cu CGM și DZ asociat

Lotul de paciente	BRCA1	p
CGM + DZ (47)	11 paciente (23,4%)	$p < 0,01$
CGM fără DZ (35)	3 paciente (8,57%)	

Discuții și concluzii:

Prin multiple studii randomizate s-a constatat că persoanele ce suferă de DZ în măsură mai mare decât

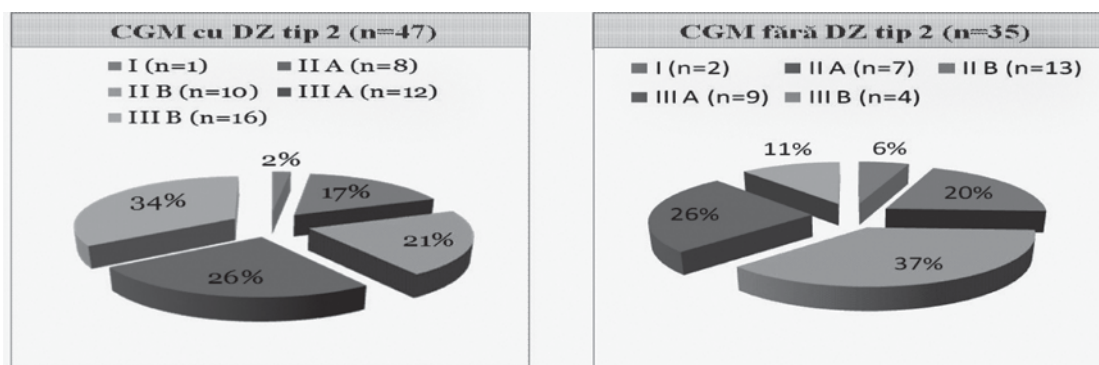


Fig. 1. Stadializarea CGM la pacientele cu CGM cu și fără DZ

populația în general sunt predispușe către dezvoltarea unui șir de tumori maligne. Printre ultimele se vor menționa: cancerul hepatic, pancreatic, colorectal, mamar și al corpului uterin [8]. În pofida unor divergențe în privința datelor ce caracterizează relativitatea riscului apariției tumorilor maligne la pacienții cu DZ, practic în toate studiile prospective indicele relativității nu a fost mai mic de 1,4-2,0 ce confirmă o dublare a morbidității [9]. În cazul altor localizări al cancerului (inclusiv cancerul ovarian, renal, pulmonar) concluziile variază de la constatarea cauzalității moderat pozitive cu DZ preexistent până la absența unor legități.

Este necesar de a atrage atenția asupra tipului DZ. Așa DZ tip I se întâlnește mult mai rar, dar de la bun început se caracterizează printr-o insuficiență insulinară absolută, frecvența maladiilor oncologice pe fondul lui totuși crește, dar prevalează cancerul corpului uterin și cancerul gastric. În cazurile "tipice", adică în cazul DZ tip II, printre factorii ce majorează riscul CGM se vor nota supraponderea, depourile adipoase de tip central sau superior și insulinorezistența/hiperinsulinemia (inclusiv și schimbarea producerii peptidului-C și proinsulinei) [9].

Gena BRCA1 a fost identificată prin clonare pozițională pe brațul lung al cromozomului 17 (17q12-21). Aceasta codifică o proteină care constă din 1863 aminoacizi BRCA1 / 2 – gene – supresoare de proliferarea celulelor, inactivarea de ambele alele care duc la diviziunea necontrolată și în cele din urmă la apariția unei tumori maligne [10,11].

A fost demonstrat că cancerul mamar BRCA1 asociat, în contrast cu cel sporadic, este caracterizat de un grad înalt de malignitate, o incidență crescută a tumorilor estrogen și progesteron-negative, frecvența mai mare a formelor morfologice rare, patomorphism terapeutic pronunțat până la regresie totală [13]. S-a constatat că supraviețuirea pacienților cu cancer ereditare ale sistemului reproductiv feminin este mult mai mare decât în grupul total de pacienți, indiferent de stadiul și de tratament: 5 ani de supraviețuire a pacienților cu CGM ereditare este de 75% (populația generală - 43%) [14].

Particularitățile evoluției clinice ale CGM asociat cu DZ tip 2 (stadializarea, efectul tratamentului, mortalitatea specifică).

Către mijlocul anilor '80 ai secolului trecut la mulți cercetători s-a creat impresia că asocierea DZ

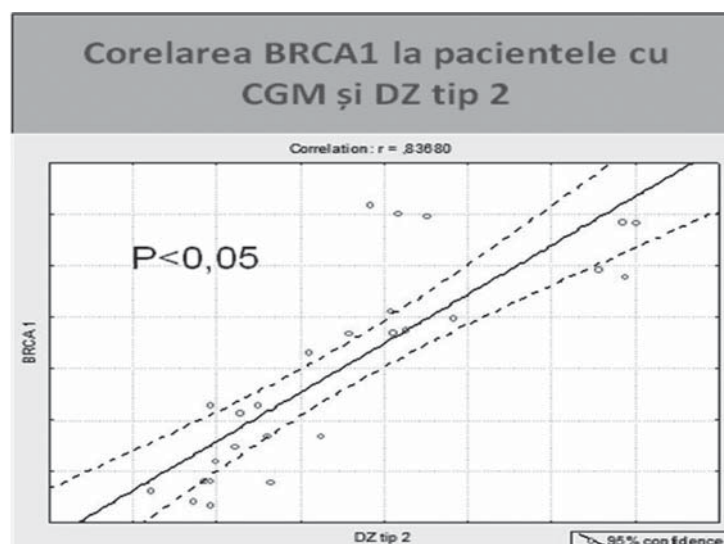


Fig. 2. Gradul de corelare a mutației în gena BRCA 1 cu CGM și DZ

tip II cu CGM sau endometrial ar putea fi un factor favorabil pentru evoluția ulterioară a procesului oncologic, ce s-ar asocia cu perioada prelungită fără recidive, prognostic mai favorabil *quo ad vitam* [4]. În ultimul timp o asemenea poziție pare a fi suspiciunată.

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

Concluzii:

1. Particularitățile clinice ale pacientelor cu CGM și DZ tip2 se caracterizează printr-o frecvență mai mare a formelor difuze ale CGM (forme locoregionale avansate) – (12,8% vs 2,86%) – $p < 0,05$.

2. Aprecierea mutației în gena BRCA1 în lotul pacientelor cu CGM și DZ tip 2 a prezentat diferențe statistice veridice, față de cele fără DZ (23,4% versus 8,57%; $p < 0,01$).

Bibliografie

1. American Cancer Society. *Breast cancer facts & figures 2005-2010*. Atlanta, GA: American Cancer Society Inc, 2010.
2. Centers for Disease Control and Prevention. *National Diabetes Surveillance System: prevalence of diabetes*. Version current, march 2013
3. Internet :<http://www.cdc.gov/diabetes/statistics/prev/national/figpersons.htm> (accesat 10 octombrie 2013).
4. Larsson S.C., Mantzoros C.S., Wolk A. *Diabetes mellitus and risk of breast cancer: a meta-analysis*. Int J Cancer. 2007;121: p.856–862.
5. Xue F., Michels K.B. *Diabetes, metabolic syndrome, and breast cancer: a review of the current evidence*. Am J Clin Nutr. 2007; 86:p.823–835.
6. Van der Burg B., Rutteman G.R., Blankenstein M.A., de Laat S.W., van Zoelen E.J. *Mitogenic stimulation of human breast cancer cells in a growth factor-defined medium: synergistic action of insulin and estrogen*. J Cell Physiol. 1988; 134 p.101–108.
7. Antoniou A., Pharoah P.D., Narod S. et al. *Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies*. Am J Hum Genet. 2009; 72p. 1117–1130.
8. Lipscombe L.L., Goodwin P.J., Zinman B., McLaughlin J.R., Hux J.E. *Increased prevalence of prior breast cancer in women with newly diagnosed diabetes*. Breast Cancer Res Treat. 2006; 98p. 303–309
9. Baron J.A., Weiderpass E., Newcomb P.A. et al. *Metabolic disorders and breast cancer risk (United States)*. Cancer Causes Control. 2010; 12p.875–880.
10. Janavivius, R. *Founder BRCA1/2 mutations in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control*. EPMA Journal 2010, 1p. 397–412.
11. Ferla, R. et al. *Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes*. Annals of Oncology, 18, Supplement 6, 2007, p.93-98.
12. Chen, S., et al. *Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance*. Jrn Clin Oncol, 25(11), 2007, 1329-1333.
13. Folkins, A., Longacre, T. *Hereditary gynecological malignancies: advances in screening and treatment*. Histopathology, 2013, 62 p.2-30.
14. Mahoney-Shannon, K., and Chittenden, A. *Genetic testing by cancer site: breast*. The Can Jrn, 18(4) 2012. p. 310-319.