



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ,
FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE
„GEORGE EMIL PALADE”
DIN TÂRGU MUREȘ

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ, FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE "GEORGE EMIL PALADE" DIN TÂRGU MUREȘ – ȘCOALA DE STUDII DOCTORALE

Rezumat al tezei de doctorat:

Aspecte morfologice, imunofenotipice și moleculare ale carcinoamelor gastrice

Doctorand: Satală Cătălin-Bogdan

Conducător de doctorat: Prof. univ. dr. Gurzu Simona

Cancerul gastric reprezintă una dintre cele mai agresive tumori, situându-se pe locul 5 la nivel global din punct de vedere al incidenței, respectiv locul 4 în ceea ce privește mortalitatea. Cel mai frecvent tip de cancer al stomacului (peste 90%) este carcinomul gastric (CG). CG este cunoscut ca fiind una dintre cele mai heterogene tumori. Această heterogenitate este evidentă atât din perspectiva aspectelor histologice, dar mai ales în ceea ce privește caracteristicile genetice și moleculare ale tumorilor, motiv pentru care este dificilă implementarea unui sistem de clasificare universal. Mai mult decât atât, diversitatea fenotipică majoră prezentă în cadrul aceleiași tumori, influențează negativ eficacitatea terapiilor oncologice. Așadar, această caracteristică a CG reprezintă una dintre cauzele importante care stau la baza transformării acestuia într-o reală problemă de sănătate la nivel mondial.

Scopul acestei lucrări a fost efectuarea unei analize clinicopatologice a cazurilor de CG diagnosticate în Spitalul Clinic Județean de Urgență din Târgu-Mureș în perioada 2017-2021, testând ipoteze validate imnohistochimic (IHC) și prin hibridizare in-situ cu fluorescență (FISH). Am ipotezat faptul că diversitatea fenotipică a acestor tumori necesită implementarea unor biomarkeri suplimentari cu rol diagnostic și/sau prognostic, cu specificitate și sensibilitate acceptabile.

În primul capitol, am testat heterogenitatea imunofenotipică a expresiei HER2, utilizând două clone diferite ale aceluiași anticorp. De asemenea, am confirmat gradul de expresie HER2 prin tehnica FISH. Din totalul de 93 de pacienți incluși în studiu, 22.58% au avut tumori cu pozitivitate HER2 cel puțin focală și cel puțin 1+, independent de clona utilizată. 7.53% au prezentat imunomarcaj de tip 3+ (pozitiv), utilizând anticorpul policlonal, iar în cazul utilizării clonei CB11, cazurile cu imunomarcaj 3+ (pozitiv) au fost reprezentate de un procent de 6.45%. În 7.53% din cazuri, imunomarcajul HER2 a fost de tip 2+ (echivoc), independent de clona utilizată. Grupul echivoc a fost reprezentat de același număr de cazuri pentru ambele clone utilizate, datorită unei ușoare tendințe de subevaluare a imunomarcajului HER2 în cazul clonei CB11, comparativ cu anticorpul policlonal: 1 caz cu imunomarcaj 3+ (utilizând anticorpul policlonal) a fost încadrat ca 2+ (utilizând clona CB11), respectiv 1 caz cu imunomarcaj 2+ (utilizând anticorpul policlonal) a fost încadrat ca 1+ (utilizând clona CB11). Categoria 1+ (negativ) a fost reprezentată de 7.53% din cazuri în cazul anticorpului policlonal, respectiv 8.6% din cazuri în cazul clonei CB11. Toate cazurile cu marcaj de tip 3+ au fost confirmate ca fiind amplificate prin FISH, respectiv toate cazurile cu marcaj de tip 1+ au fost confirmate ca fiind non-amplificate. Peste jumătate din cazurile cu marcaj echivoc, 2+, au prezentat amplificare genică.

Analiza HER2 pe multiple secțiuni din același caz a demonstrat existența unei heterogenități marcate intratumorale, atât între arii diferite ale tumorii, cât și între celule tumorale din structura aceleiași glande. În cancerul gastric, gena *HER2* este amplificată preponderent în adenocarcinoamele bine sau moderat diferențiate. Stabilirea unui diagnostic de CG HER2-negativ prin reacții IHC necesită analiza a cel puțin 3-4 secțiuni tumorale, prelevate din focare diferite. Este indicată analiza FISH a statusului genei *HER2* în toate cazurile care prezintă imunomarcaj de tip 3+, chiar și în focare de sub 5% din volumul tumoral analizat.

Ambele clone ale anticorpilor anti-HER2 testate în studiul de față pot fi utilizate în practica zilnică, acestea demonstrând rezultate superpozabile în peste 90% din cazuri. Pentru reacția FISH este recomandată utilizarea unei secțiuni în care a fost demonstrată existența unui focar 3+, indiferent de dimensiunile acestuia. În CG, amplificarea genei *HER2* reprezintă un indicator independent de prognostic negativ.

Cel de-al doilea capitol a avut 2 teme principale, una centrată pe implicațiile VSIG1 în carcinogeneza gastrică și în tranziția epitelialo-mezenchimală (TEM) și a doua pe modul de expresie și interacțiunea mucinelor cu alte molecule, în CG. Am urmărit evidențierea posibilului impact prognostic sau predictiv al fenotipului mucinelor în CG, precum și elucidarea cascadelor moleculare modificate ca urmare a alterării metabolismului acestor molecule. De asemenea, plecând de la ipoteza că există diferențe între modul de expresie al VSIG1 în centrul tumorii și periferia acesteia/frontul de invazie tumorală, am analizat IHC expresia în aceste două localizări și am clasificat CG în funcție de modul de variație al acesteia, efectuând pe aceste considerente o stratificare a pacienților.

Astfel, am divizat cazurile în trei categorii: subtip omolog tip I (imunomarcaj membranar atât în centrul tumorii, cât și în frontul de invazie) – 20 cazuri, subtip omolog tip II (reacție negativă atât în centrul tumorii, cât și în frontul de invazie) – 53 cazuri, și subtip heterolog, cu două subdiviziuni (tip A - imunomarcaj membranar în centrul tumorii, cu translație citoplasmatică în frontul de invazie – 5 cazuri și tip B – imunomarcaj citoplasmatic în centrul tumorii, cu pierderea marcajului în frontul de invazie – 15 cazuri). Dintre aceste tipuri de expresie a VSIG1, cea mai mică rată de supraviețuire a fost înregistrată în cazul subtipului heterolog. De asemenea, același tip de marcaj a fost asociat cu TEM, demonstrată prin pierderea expresiei E-caderinei și translația nucleară a β -cateninei. În ceea ce privește fenotipul mucinelor, această lucrare a demonstrat evidența unor mecanisme post-tumorigenice de activare a genei *MUC2*: CG dezvoltate pe leziuni precursoare cu metaplazie intestinală (MI) "moștenesc" imunofenotipul *MUC2*-pozitiv, dar a fost dovedită existența unor tumori *MUC2*-pozitive dezvoltate pe leziuni precursoare *MUC2*-negative. În aceste cazuri, pozitivitatea *MUC2* reprezintă o achiziție post-tumorigeneză, ca urmare a modulării genice prin intermediul unor factori de transcripție sau a unor microARN-uri. *MUC5AC*, marker de diferențiere gastrică, alături de VSIG1, poate fi utilizat în cazul metastazelor cu origine necunoscută, ca dovadă a originii de la nivelul stomacului al tumorii.

În capitolul 3 a fost prezentată o variantă rară de carcinom scuamos (CS) al joncțiunii gastro-esofagiene (JGE), CS cu celule în inel cu pecete. Acest subtip este extrem de rar, în literatură fiind descrise doar 24 de cazuri. Pentru o perioadă lungă de timp, aspectul sigilocelular a fost considerat o caracteristică doar a adenocarcinomelor, însă recent, acesta a fost descris și în alte tumori: limfoame, sarcoame, mezoteliom sau CS. Nu este cunoscut mecanismul de apariție al acestui aspect în CS, nefiind pusă în evidență prezența mucinei, a lipidelor sau a depozitelor imunoglobulinice în aceste celule. Unele studii de microscopie electronică au postulat apariția acestei variante ca urmare a dilatării cisternelor reticulului endoplasmic.

Studiul nostru a ipotezat pentru prima dată teoria secvențialității TEM și achiziției caracterelor de celule stem, în mecanismul apariției acestui subtip. Achiziția caracterului de pluripotență, evidențiat prin pozitivitatea la SOX2 și/sau CD44, reprezintă o etapă obligatorie care precede TEM, însă, odată cu dobândirea fenotipului mezenchimal, celulele tumorale pierd expresia a cel puțin unuia dintre acești doi markeri, mai frecvent SOX2.