
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Semnificația neoplaziilor primare multiple: risc și predicție

Doctorand **Adina Nemeș**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Viorica Magdalena Nagy**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Neoplaziile primare multiple: epidemiologie, definiție, clasificare	17
1.1. Epidemiologie	17
1.2. Definiție	18
1.3. Clasificare	18
2. Factori de risc implicați în etiologia neoplaziilor primare multiple	19
2.1. Factori genetici	19
2.2. Factori de mediu	23
2.3. Factori iatrogeni	24
3. Asocieri frecvente de cancer în cadrul neoplaziilor primare multiple	29
4. Tumori sincrone versus tumori metacrone	31
5. Istoria naturală a neoplaziilor primare multiple	33
5.1. Histologie	33
5.2. Stadiu	33
6. Tratamentul pacienților cu neoplazii primare multiple	35
7. Prognosticul pacienților cu neoplazii primare multiple	37
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	41
2. Metodologie generală	43
3. Studiul 1 - Caracteristicile clinico-patologice ale pacienților cu neoplazii primare multiple	45
3.1. Introducere	45
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	45
3.3. Material și metodă	45
3.4. Rezultate	46
3.5. Discuții	57
3.6. Concluzii	60

4. Studiul 2 - Factori de prognostic pentru apariția neoplaziilor primare multiple	63
4.1. Introducere	63
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	63
4.3. Material și metodă	63
4.4. Rezultate	64
4.5. Discuții	83
4.6. Concluzii	86
5. Studiul 3- Ciclina D1 și p53 ca potențiali biomarkeri predictivi pentru dezvoltarea de neoplazii primare multiple	89
5.1. Introducere	89
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	89
5.3. Material și metodă	89
5.4. Rezultate	90
5.5. Discuții	97
5.6. Concluzii	99
6. Concluzii generale	101
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	105
REFERINȚE	109

Cuvinte cheie: neoplazii primare multiple, tumori sincrone, tumori metacrone, cancere multiple, tumori secundare, tumori multiple

INTRODUCERE

Neoplaziile primare multiple (NPM) reprezintă entități particulare cu o incidență în continuă creștere, fiind observate din ce în ce mai multe cazuri în practica clinică. NPM au reprezentat un motiv de controversă încă din 1890 când au fost descrise pentru prima dată în literatura de specialitate, și sunt o adevărată provocare pentru oncologi, radioterapeuți și chirurghi.

Datele disponibile la ora actuală în literatura de specialitate sunt limitate, majoritar fiind reprezentate de prezentări de caz. Există puține studii publicate care să evalueze uniform problematica complexă a neoplaziilor primare multiple: incidența NPM, factori de risc posibil implicați în etiologia NPM, asocieri frecvente de cancere, tratamentele administrate și secvența terapeutică urmată, factori predictivi pentru dezvoltarea de neoplazii primare multiple, supraviețuirea pacienților cu NPM. De asemenea majoritatea studiilor publicate sunt studii retrospective, pe loturi mici de pacienți, desfășurate în cadrul unei singure instituții.

Având în vedere impactul acestor entități în practica clinică există un interes crescut în analizarea caracteristicilor pacienților cu NPM și în identificarea de factori predictivi pentru dezvoltarea de NPM.

Pornind de la stadiul actual al cunoașterii ne-am propus analiza caracteristicilor clinico-patologice ale pacienților cu NPM diagnosticați și tratați în cadrul Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012 în vederea identificării unor posibili factori prognostici și predictivi pentru dezvoltarea de neoplazii multiple la pacienții oncologici, obiectivul final fiind elaborarea unui protocol de urmărire a pacienților cu cancer cu risc pentru dezvoltarea unui al doilea cancer cu scopul diagnosticului precoce al celui de-al doilea, sau chiar al treilea cancer.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Ipoteza de lucru/obiective

Principalele obiective ale acestei lucrări au fost evaluarea incidenței NPM, identificarea principalelor localizări și histologiei din cadrul NPM, a posibilelor asocieri, a caracteristicile pacienților cu NPM, a factorilor de risc posibili a fi implicați în etiologia NPM, a impactului acestor entități asupra supraviețuirii pacienților neoplazici, cu dezvoltarea unor strategii de prevenție și urmărire specifică a pacienților cu cancer supraviețuitori de lungă durată cu risc pentru dezvoltarea de NPM. De asemenea această lucrare si-a propus identificarea unor factori prognostici pentru dezvoltarea de NPM.

Scopul final al lucrării este elaborarea unui protocol de urmărire a pacienților cu risc pentru dezvoltarea de NPM pe baza rezultatelor obținute.

Metodologie generală

Acest studiu retrospectiv, nerandomizat a inclus pacienți cu NPM diagnosticați și tratați în cadrul Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012.

Designul studiului a fost evaluat și aprobat de Comisia de Etică a Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca și de Comisia de Etică a Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca.

NPM au fost definite ca două sau mai multe neoplazii primare diagnosticate la același pacient simultan sau la un anumit interval de timp și care nu au reprezentat evoluția, recidiva sau metastazarea primei neoplazii. Criteriile conform cărora pacienții au fost considerați a avea NPM au fost următoarele: 1. fiecare tumoră trebuie să fi fost malignă conform rezultatului histopatologic; 2. canceretele trebuie să fi fost diferite din punct de vedere histologic și localizate diferit; 3. posibilitatea ca unul dintre cancerete să fi fost o metastază determinată de celălalt cancer a fost exclusă.

Din studiu au fost excluși pacienții cu carcinom in situ indiferent de localizare.

Stadializarea cazurilor a fost efectuată conform sistemului de stadializare American Joint Committee on Cancer (AJCC).

NPM au fost clasificate în sincrone și metacrone în funcție de intervalul de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii, respectiv sincrone atunci când cel de-al doilea cancer a fost diagnosticat într-un interval de 6 luni de la diagnosticul primului cancer și metacrone atunci când cel de-al doilea cancer a fost diagnosticat la peste 6 luni de la diagnosticul primului cancer. Neoplaziile primare multiple la care cel de-al doilea cancer a fost diagnosticat în cursul bilanțului inițial pentru primul cancer au fost clasificate ca neoplazii simultane. Neoplaziile primare multiple metacrone au fost subdivizate în două categorii: metacrone <5 ani (6 luni-59 luni de la diagnosticul primului cancer) și metacrone >5ani (> 5 ani de la diagnosticul primului cancer).

Foile de observație ale pacienților incluși în studiu au fost examinate retrospectiv, iar datele demografice, clinice, patologice și legate de tratament au fost

înregistrate și analizate. Datele obținute din foile de observație ale pacienților au fost utilizate pentru crearea unei baze de date. Toți pacienții incluși în studiu au avut consimțământ informat semnat. Pentru evaluarea datelor demografice, a caracteristicilor pacienților și a principalelor asocieri clinicopatologice a fost utilizată statistica descriptivă. Metoda Kaplan-Meier, testul longrank, testul Hi pătrat și testul student au fost utilizate pentru compararea rezultatelor și a curbelor de supraviețuire. Semnificația statistică a fost considerată la un $p < 0.05$.

Pentru identificarea unor posibili factori predictivi imunohistochimici pentru dezvoltarea de NPM au fost efectuate teste de imunohistochimie din blocurile la parafină ale unor pacienți cu NPM și neoplazii unice disponibile în cadrul Laboratorului de Anatomie Patologică al Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca.

Studiul 1- Caracteristicile clinico-patologice ale pacienților cu neoplazii primare multiple

Ipoteza de lucru/obiective

Acest studiu retrospectiv, nerandomizat și-a propus analiza caracteristicilor pacienților cu NPM: factorii de risc posibil implicați în etiologia NPM, indicele de performanță al pacienților diagnosticați cu NPM, vârsta de apariție a NPM, stadiul tumorii la momentul diagnosticului, intervalul mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii, principalele tumori primare și secundare, tratamentul pe care pacienții l-au urmat atât pentru tumora primară cât și pentru tumora secundară, toxicitatea tratamentului și posibilitatea administrării tratamentului optimal pentru tumora secundară precum și supraviețuirea pacienților cu neoplazii primare multiple cu scopul de a identifica care pacienți diagnosticați cu cancer sunt mai predispuși să dezvolte o a doua neoplazie pe parcursul vieții.

Concluzii

Incidența NPM în rândul pacienților diagnosticați și tratați în cadrul Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012 a fost de 0.8%.

Majoritatea pacienților cu NPM s-au prezentat cu tumori metacrone, aceștia fiind diagnosticați cu cea de a doua localizare în primii 5 ani de la diagnosticul primei localizări, cu un interval mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii de 30.98 de luni.

Vârsta mediană la diagnostic a fost de 60 de ani, majoritatea pacienților diagnosticați cu NPM fiind pacienți adulți cu vârsta cuprinsă între 15 și 64 de ani.

Prezența a două sau mai multe neoplazii pe parcursul vieții sau tratamentul administrat pentru prima neoplazie nu au influențat reactivitatea bolnavilor diagnosticați cu neoplazii primare multiple, majoritatea pacienților având un IP de 0 sau 1 atât în momentul diagnosticului tumorii primare cât și în momentul diagnosticului tumorii secundare.

Majoritatea pacienților s-au prezentat cu tumori în stadii incipiente (0-II) atât în momentul diagnosticului tumorii primare cât și în momentul diagnosticului tumorii secundare.

Cele mai frecvente tumori primare diagnosticate la pacienții cu NPM au fost cancerul mamar , cancerele sferei ORL, cancerul colorectal, cancerul ovarian, cancerul de prostată și cancerul de corp uterin, iar cele mai frecvente tumori secundare au fost cancerul mamar, cancerul colorectal, cancerul de corp uterin, cancerele sferei ORL, cancerul bronhopulmonar și cancerul tiroidian.

Cele mai frecvente tumori diagnosticate la femei au fost cancerul mamar, cancerul de corp uterin, cancerul ovarian, cancerul de col uterin, cancerul colorectal și cancerul tiroidian. La bărbați cele mai frecvente tumori diagnosticate au fost cancerele sferei ORL, cancerul de prostată, cancerul bronhopulmonar, cancerul colorectal, cancerul de vezică urinară și cancerele cutanate.

Analiza cazurilor în funcție de factorii etiologici majori probabil implicați în etiologia NPM a evidențiat faptul ca majoritatea cazurilor au fost neplazii cu factori etiologici comuni (predispoziție genetic și factori de mediu) și cazuri întâmplătoare, urmate de cazuri sindromice și neplazii induse iatrogen.

Tratamentul administrat pentru prima neoplazie a influențat posibilitatea administrării optimale a tratamentului pentru cea de a doua neoplazie, fiind observate mai multe toxicități (atât de grad 1-2 cât și 3-4) la tratamentul tumorii secundare.

Supraviețuirea pacienților cu NPM metacrone a fost superioară în comparație cu cea a pacienților cu NPM sincrone.

Studiul 2- Factori prognostici pentru apariția neoplaziilor primare multiple

Ipoteza de lucru/obiective

Principalele obiective ale studiului au fost evaluarea celor mai frecvente asocieri de cancer la pacienții cu NPM pe întreg lotul de pacienți precum și pentru cele mai frecvente localizări observate în cadrul studiului nostru în vederea elaborării unui protocol de urmărire a pacienților cu cancer cu scopul identificării pacienților la risc de a dezvolta o a doua neoplazie. De asemenea, cu scopul de a identifica o serie de factori prognostici pentru dezvoltarea de NPM, ne-am propus analizarea caracteristicilor și a supraviețuirii pacienților cu cele mai frecvente localizări observate în rândul pacienților cu NPM și compararea acestor caracteristici cu cele ale pacienților diagnosticați cu localizările respective ca localizare unică în Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012.

Concluzii

În studiul actual vârsta medie la diagnostic a fost similară la pacienții cu NPM comparativ cu pacienții cu neplazii unice pentru pacienții diagnosticați cu cancer în sfera ORL, cancer de corp uterin, cancer colorectal, cancer de prostată și cancer bronhopulmonar. Pentru pacientele diagnosticate cu cancer mamar cu NPM vârsta medie la diagnostic a fost mai mare comparativ cu cea a pacientelor diagnosticate cu cancer mamar ca neoplazie unică.

Intervalul mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neplazii în cazul tumorilor metacrone a fost de 30.98 luni. Pentru pacienții diagnosticați cu cancer colorectal ca primă localizare intervalul mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neplazii a fost de 34.15 luni, pentru pacientele

diagnosticate cu cancer de corp uterin ca primă localizare acest interval a fost de 43.46 luni, pentru pacienții diagnosticați cu cancer de prostată 25.26 luni, pentru pacientele diagnosticate cu cancer mamar 33.01 luni, pentru pacienții diagnosticați cu cancer bronhopulmonar 26.12 luni și pentru pacienții diagnosticați cu cancere în sfera ORL 33.32 luni.

Cele mai frecvente asocieri la pacienții cu NPM sincrone au fost cancer ovarian-cancer de corp uterin, cancer ORL-cancer ORL, cancer de vezică urinară-cancer de prostată, cancer ORL-cancer esofagian și cancer de corp uterin-cancer mamar. Pentru pacienții diagnosticați cu NPM metacrone cele mai frecvente asocieri au fost cancer mamar-cancer ovarian, cancer mamar-cancer tiroidian, cancer ORL-cancer bronhopulmonar, cancer de prostată-cancer bronhopulmonar, cancer bronhopulmonar-cancer colorectal, cancer colorectal-cancer de prostată și cancer de corp uterin-cancer mamar.

La femei cele mai frecvente asocieri au fost cancer ovarian-cancer de corp uterin, cancer de corp uterin-cancer mamar, cancer mamar-cancer ovarian, cancer mamar-cancer tiroidian, cancer ovarian-cancer colorectal și cancer de col uterin-cancer mamar. La bărbați cele mai frecvente asocieri au fost cancer de vezică urinară-cancer de prostată, cancer ORL-cancer ORL, cancer ORL-cancer bronhopulmonar, cancer cutanat-cancer cutanat, cancer ORL-cancer esofagian, cancer de prostată-cancer bronhopulmonar, cancer colorectal-cancer de prostată.

Supraviețuirea la 5 ani pentru pacientele diagnosticate cu cancer mamar cu NPM a fost de 89,9%, pentru pacienții diagnosticați cu cancer bronhopulmonar a fost de 19,3%, pentru pacienții diagnosticați cu cancere ale sferei ORL a fost de 33,2%, pentru pacienții diagnosticați cu cancer de prostată a fost de 48,5%, pentru pacientele diagnosticate cu cancer de corp uterin a fost de 80,9% iar pentru pacienții diagnosticați cu cancer colorectal a fost de 57,7%.

Supraviețuirea la 5 ani de la diagnosticul celei de a doua neoplazii a fost de 32% iar supraviețuirea mediană de la diagnosticul celei de a doua neoplazii a fost de 31.5 luni.

Studiul 3- Ciclina D1 și p53 ca potențiali biomarkeri predictivi pentru dezvoltarea de neoplazii primare multiple

Ipoteza de lucru/obiective

În cadrul acestui studiu ne-am propus evaluarea expresiei ciclinei D1 și a p53 ca factori predictivi pentru dezvoltarea de NPM, ciclina D1 și p53 fiind proteine cu rol major în controlul ciclului celular, supraexpresia celor două proteine reprezentând un eveniment frecvent întâlnit în carcinogeneza a multiple tumori.

Material și metodă

Din cei 278 de pacienți cu NPM diagnosticați și tratați în cadrul Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012 au fost selecționați 23 de pacienți cu NPM ale căror blocuri la parafină au fost disponibile în arhiva Laboratorului de Anatomie Patologică al institutului.

Toți cei 23 de pacienți cu NPM au fost diagnosticați cu tumori solide cu diverse localizări și histologii.

Cu cele 23 de cazuri descrise mai sus s-a efectuat un studiu caz-martor. Pentru fiecare caz s-a ales aleator din baza de date a institutului, pentru aceeași perioadă, un pacient cu o singură neoplazie cu aceeași vârstă, sex și localizare.

Din ambele grupuri au fost excluse cazurile de pacienți cu posibilă predispoziție genetică, cazurile sindromice și cazurile induse iatrogen și pacienții cu carcinom in situ indiferent de localizare.

Din blocurile la parafină ale celor 46 de pacienți s-au efectuat secțiuni la 5 microni, reprezentative din zone în care era preponderentă tumora malignă. Acestea au fost colorate cu anticorpi pentru ciclina D1 (P2D11F11, Novocastra, diluție 1/40) și p53 (DO 7, Ventana; CC1 mild, timp de incubare cu Ac primar 16 min), iar lamele au fost analizate cu obiectivul de 10x și 40x. Colorația nucleară a probelor pentru ciclina D1 și p53 a fost raportată atât procentual (cu o medie pe 5 HPF), cât și ca intensitate a colorației.

Rezultate

Proporția de pacienți cu ciclina D1 subexprimată a fost mai mare în rândul pacienților diagnosticați cu NPM comparativ cu pacienții diagnosticați cu o singură neoplazie. Analiza intensității colorației pentru ciclina D1 a arătat că la pacienții cu NPM ciclina D1 a fost statistic semnificativ mai slab colorată comparativ cu pacienții cu neoplazii unice.

Expresia p53 și intensitatea p53 observată a fost mai slabă la o proporție mai mare de pacienți cu NPM comparativ cu pacienții diagnosticați cu o singură neoplazie, însă fără semnificație statistică.

Asocierea expresiei ciclinei D1 și a p53 a arătat că la pacienții cu NPM cele două proteine au fost subexprimate la o proporție mai mare de pacienți comparativ cu pacienții cu neoplazii unice, p statistic semnificativ atunci când subexprimarea celor două proteine a fost comparată cu situația în care oricare din cele două proteine a fost supraexprimată sau cele două proteine au fost supraexprimate.

Concluzii

Rezultatele studiului nostru au arătat că la pacienții cu NPM ciclina D1 și p53 sunt subexprimate comparativ cu pacienții cu neoplazii unice, însă pentru validarea acestor rezultate sunt necesare studii pe loturi mai mari de pacienți.

Concluzii generale

Incidența NPM în rândul pacienților diagnosticați și tratați în cadrul Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012 a fost de 0.8%.

Majoritatea pacienților cu NPM s-au prezentat cu tumori metacrone, cu un interval mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii de 30.98 luni.

Vârsta mediană în momentul diagnosticului a fost de 60 ani atât în rândul pacienților diagnosticați cu tumori sincrone, cât și în rândul pacienților diagnosticați cu tumori metacrone. Majoritatea pacienților diagnosticați cu NPM au fost pacienți adulți incluși în grupa de vârstă 15-64 ani.

Cele mai frecvente tumori primare observate au fost cancerul mamar , cancerule sferei ORL, cancerul colorectal, cancerul ovarian, cancerul de prostată și tumorile corpului uterin, iar cele mai frecvente tumori secundare observate au fost cancerul mamar, cancerul colorectal, cancerul de corp uterin, cancerule sferei ORL, cancerul bronhopulmonar și tumorile tiroidiene.

Cele mai frecvente tumori observate la femei au fost cancerul mamar, cancerul de corp uterin, cancerul ovarian, cancerul de col uterin, cancerul colorectal și cancerul tiroidian.

Cele mai frecvente tumori observate la bărbați au fost cancerule sferei ORL, cancerul de prostată, cancerul bronhopulmonar, cancerul colorectal, cancerul de vezică urinară și tumorilor cutanate.

Incidența NPM în rândul pacienților diagnosticate și tratate cu cancer mamar în cadrul Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012 a fost de 0.7%. Pentru pacientele diagnosticate cu cancer mamar cu NPM vârstă mediană la diagnostic a fost de 60 de ani, iar vârsta medie a fost statistic semnificativ mai mare comparativ cu cea a pacienților diagnosticate cu cancer mamar ca unică neoplazie unică (59.7 ani vs 55.6 ani, $p=0.011$). Interval mediu de timp între diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii pentru pacientele diagnosticate cu cancer mamar cu NPM a fost de 33.01 luni. Cele mai frecvente asocieri observate la pacientele cu cancer mamar cu NPM sincrone au fost cu cancerule ginecologice (cancer de corp uterin, cancer de col uterin și cancer ovarian) și cu cancerul mamar, iar la pacientele cu cancer mamar cu NPM metacrone cu cancerul renal, tiroidian, cancerule ginecologice, cancerul de vezică urinară și limfomul Hodgkin.

Incidența NPM în rândul pacienților diagnosticați cu cancer în sfera ORL a fost de 2.4%. Intrevalul mediu de timp între diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii a fost de 33.32 luni pentru pacienții diagnosticați cu cancer în sfera ORL cu NPM. Asocierea cancer în sfera ORL-cancer în sfera ORL a fost cea mai frecventă asociere observată la pacienții cu cancer în sfera ORL cu NPM, urmată de asocierea cu cancerul esofagian și cancerul bronhopulmonar.

Incidența NPM în rândul pacienților diagnosticați cu cancer colorectal a fost de 1.3%. Pentru pacienții diagnosticați cu cancer colorectal cu NPM intervalul mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii a fost de 34.15 luni. Cele mai frecvente asocieri observate la pacienții diagnosticați cu cancer colorectal cu NPM au fost cu cancerule urogenitale (cancer renal, cancer de prostată), cancerule genitale feminine (cancer ovarian, cancer de col uterin), cu cancerul mamar și cancerule digestive (cancer colorectal)

Incidența NPM în rândul pacienților diagnosticați și tratați cu cancer de prostată în cadrul Institutului Oncologic "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 2008-2012 a fost de 2.4%. Intervalul mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii pentru pacienții diagnosticați cu cancer de prostată cu NPM a fost de 25.26 luni. Cea mai frecventă asociere observată la pacienții cu cancer de prostată cu NPM în cadrul studiului nostru a fost cu cancerul de vezică urinară, urmată de asocierea cu cancerul renal, cancerul colorectal și cancerul bronhopulmonar.

Incidența NPM în rândul pacienților diagnosticați cu cancer bronhopulmonar a fost de 0.9%, iar intervalul mediu de timp dintre diagnosticul primei și celei de a doua neoplazii a fost de 26.12 luni. Asocierea cancer bronhopulmonar-cancer ORL a fost cea

mai frecventă asociere observată la pacienții cu cancer bronhopulmonar cu NPM sincrone, urmată de asocierea cu cancerul esofagian. Pentru pacienții diagnosticați cu cancer bronhopulmonar cu NPM metacrone cele mai frecvente asocieri observate au fost cancer bronhopulmonar-cancer colorectal, cancer bronhopulmonar-cancer mamar.

Supraviețuirea la 5 ani a pacienților cu NPM metacrone a fost statistic semnificativ mai mare (68%) comparativ cu cea a pacienților cu NPM sincrone (54%) ($p=0.02$)

La pacienții cu NPM ciclina D1, p53 precum și asocierea ciclinei D1 cu p53 au fost subexprimate comparativ cu pacienții cu neoplazii unice.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Originalitatea și contribuțiile inovative ale studiului constau în identificarea și evaluarea factorilor de risc și de predicție pentru dezvoltarea NPM iar, pe baza rezultatelor obținute, în elaborarea unui protocol de urmărire a pacienților cu cancer cu risc pentru dezvoltarea unui al doilea cancer cu scopul diagnosticului precoce al celui de-al doilea, sau chiar al treilea cancer. După cunoștințele noastre acesta este primul studiu din România desfășurat pe un număr mare de pacienți cu NPM tratați într-un singur institut, cu analizarea complexă a problematicii NPM din punctul de vedere al incidenței, posibilibilor factori de risc implicați în etiologia NPM, a celor mai frecvente asocieri, a rezultatelor și toxicității tratamentelor administrate și a supraviețuirii pacienților diagnosticați cu NPM. De asemenea protocolul de urmărire al pacienților oncologici la risc de a dezvolta neoplazii primare multiple ar reprezenta primul astfel de protocol elaborat atât la nivel național cât și internațional.

SUMMARY OF THE PhD THESIS

The significance of multiple primary neoplasms: risk and prediction

PhD Student **Adina Nemeş**

PhD Scientific Coordinator Prof.dr. **Viorica Magdalena Nagy**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ŞI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	
1. Multiple primary neoplasms: epidemiology, definition, classification	17
1.1. Epidemiology	17
1.2. Definition	18
1.3. Classification	18
2. Risk factors involved in the etiology of multiple primary neoplasms	19
2.1. Genetic factors	19
2.2. Environmental factors	23
2.3. Iatrogenic factors	24
3. Frequent cancer associations in multiple primary neoplasms	29
4. Synchronous tumors versus metachronous tumors	31
5. The natural history of multiple primary neoplasms	33
5.1. Histology	33
5.2. Stage	33
6. Treatment of patients with multiple primary neoplasms	35
7. Prognosis of patients with multiple primary neoplasms	37
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Working hypothesis/objectives	41
2. General methodology	43
3. Study 1 – Clinico-pathological characteristics of patients with multiple primary neoplasms	45
3.1. Introduction	45
3.2. Working hypothesis/objectives	45
3.3. Methods	45
3.4. Results	46
3.5. Discussion	57
3.6. Conclusion	60

4. Study 2 – Prognostic factors for the appearance of multiple primary neoplasms	63
4.1. Introduction	63
4.2. Working hypothesis/objectives	63
4.3. Methods	63
4.4. Results	64
4.5. Discussion	83
4.6. Conclusion	86
5. Study 3- Cyclin D1 and p53 as potential predictive biomarkers for the development of multiple primary neoplasms	89
5.1. Introduction	89
5.2. Working hypothesis/objectives	89
5.3. Methods	89
5.4. Results	90
5.5. Discussion	97
5.6. Conclusion	99
6. General conclusion	101
7. Originality and innovative contributions of the thesis	105
REFERENCES	109

Key words: multiple primary neoplasms, synchronous tumors, metachronous tumors, multiple cancers, secondary tumors, multiple cancers

INTRODUCTION

Multiple primary neoplasms (MPN) represent particular entities with an increasing incidence, more and more cases being observed in our daily practice. MPN have been a matter of controversy since 1890 when they were described for the first time in the literature, and they are a real challenge for oncologists, radiotherapists and surgeons.

The data currently available in the literature are limited, being mostly represented by case presentations. There are few published studies that evenly evaluate the complex issue of MPN: the incidence of MPN, the possible risk factors involved in the etiology of MPN, frequent cancer associations, the treatments administered and the therapeutic sequence followed, predictive factors for the development of MPN, the survival of patients with MPN. Also most of the published studies are retrospective studies, on small number of patients, conducted within a single institution.

Given the impact of these entities in our daily practice there is a growing interest in analyzing the characteristics of patients with MPN and in identifying predictive factors for the development of MPN.

Starting from the current state of knowledge we aimed to analyze the clinico-pathological characteristics of patients with MPN diagnosed and treated in The Oncology Institute „Prof.Dr.Ion Chiricuța” Cluj-Napoca between 2008-2012 in order to identify possible prognostic and predictive factors for the development of multiple malignancies in oncological patients, the ultimate goal being to develop a surveillance protocol of oncological patients at risk for the development of a second cancer for the purpose of early diagnosis of the second, or even the third cancer.

PERSONAL CONTRIBUTION

Working hypothesis/objectives

The main objectives of this thesis were the evaluation of the incidence of MPN, the identification of the main localizations and histologies in patients with MPN, the possible cancer associations, the characteristics of the patients with MPN, the risk factors possibly involved in the etiology of MPN, the impact of these entities on the survival of oncological patients with the development of specific prevention and follow-up strategies for long-term surviving cancer patients at risk for the development of MPN. Also, this paper aimed to identify prognostic factors for the development of MPN.

The final aim of the paper is to develop a protocol for the follow-up of patients at risk for the development of MPN based on the results obtained.

General methodology

This retrospective, non-randomized study included patients with MPN diagnosed and treated in The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca between 2008-2012.

The design of the study was evaluated and approved by the Ethics Committee of The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca and by the Ethics Committee of the "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca.

MPN were defined as two or more primary neoplasms diagnosed in the same patient simultaneously or at a certain time and that did not represent the progression, relapse or metastasis of the first neoplasm. The criteria according to which patients were considered as having MPN were the following: 1) each tumor must have been malignant according to the histopathology report; 2) the cancers must have been geographically separate and histologically different; 3) the possibility of metastases among the cancers was excluded.

Patients with carcinoma *in situ* regardless of localization were excluded from the study.

Case staging was performed according to the American Joint Committee on Cancer Staging system (AJCC).

MPN were classified as synchronous and metachronous depending on the time of diagnosis of the first and second malignancies, respectively: synchronous when the second neoplasm was diagnosed within 6 months from the diagnosis of the first neoplasm and metachronous when the second neoplasm was diagnosed in more than 6 months after the diagnosis of the first neoplasm. Furthermore, multiple neoplasms diagnosed during the initial workup of one cancer were classified as simultaneous. Metachronous neoplasms were further classified in metachronous < 5 years (6-59 months from the diagnosis of the first neoplasm) and metachronous > 5 years (> 5 years from the diagnosis of the first neoplasm).

The patient medical records were retrospectively reviewed and demographic, clinical, pathological and treatment related data were recorded and analyzed. The data obtained from the patients medical records were used to create a database. All patients included in this study had an informed consent signed. For the evaluation of demographic data, patients characteristics and most frequent clinicopathological characteristics descriptive statistics was used. The Kaplan-Meier method, longrank test, Hi square test, and the student test were used to compare results and survival curves. Statistical significance was considered at a $p < 0.05$.

In order to identify possible immunohistochemical predictive factors for the development of MPN were performed immunohistochemistry tests from the paraffin blocks of patients with MPN and unique neoplasms available in the Pathology Laboratory of The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuță" Cluj-Napoca .

Study 1- Clinico-pathological characteristics of patients with multiple primary neoplasms

Working hypothesis/objectives

This non-randomized retrospective study aimed to analyze the characteristics of patients with MPN: the risk factors possibly involved in the etiology of MPN, the performance status of patients diagnosed with MPN, the age of occurrence of multiple primary malignancies, the stage of tumor at the time of diagnosis, the median interval between the diagnosis of the primary and subsequent tumor, the most frequent primary and secondary tumors, treatment administered for both primary and secondary tumors, treatment toxicity and the possibility to administer the optimal treatment for the secondary neoplasm as well as the survival of patients with MPN in order to identify which patients diagnosed with cancer are more likely to develop a second neoplasm throughout their lives.

Conclusion

The incidence of MPN among the patients diagnosed and treated in the Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuța" Cluj-Napoca between 2008-2012 was 0.8%.

Most patients with MPN presented with metachronous tumors, being diagnosed with the second neoplasm in the first five years from the diagnosis of the primary tumor, with a median interval between the diagnosis of the primary and subsequent tumor of 30.98 months.

Median age at diagnosis was 60 years, most patients diagnosed with MPN being adult patients aged 15 to 64 years.

The presence of two or more malignancies during lifetime or the treatment administered for the first neoplasm did not influence the reactivity of the patients diagnosed with MPN, most patients having a performance status of 0 or 1 both at the time of diagnosis of the primary tumor and at the time of secondary tumor diagnosis.

Most patients presented with early stage tumors (0-II) both at the time of diagnosis of the primary tumor and at the time of secondary tumor diagnosis.

The most frequent primary tumors diagnosed in patients with MPN were breast cancer, head and neck cancers, colorectal, ovarian, prostate and uterine body cancer, and the most frequent secondary tumors were breast, colorectal, uterine body, head and neck, lung and thyroid cancer.

The most frequent tumors diagnosed in women were breast cancer, uterine body , ovarian, cervical, colorectal and thyroid cancer. In men, the most frequent tumors diagnosed were head and neck tumors, prostate cancer, lung cancer, colorectal, bladder and skin cancers.

The analysis of cases according to the major etiological factors probably involved in the etiology of MPN revealed that most cases were neoplasms with common etiological factors (genetic predisposition and environmental factors) and incidental cases followed by syndromic cases and iatrogenic neoplasms.

The treatment administered for the first neoplasm has influenced the possibility of optimal treatment administration for the second neoplasm, with more toxicity (both grade 1-2 and 3-4) seen in the treatment of the secondary tumor.

Survival of patients with metachronous MPN was superior compared to that of patients with synchronous MPN.

Studiul 2- Prognostic factors for the appearance of multiple primary neoplasms

Working hypothesis/objectives

The main objectives of the study were to evaluate the most common cancer associations in patients with MPN across the patient population included in our study as well as for the most frequent localizations observed in our study for the purpose to develop a protocol for the follow-up of cancer patients in order to identify patients at risk of developing a second neoplasm. Also, in order to identify a series of prognostic factors for the development of MPN, we proposed to analyze the characteristics and survival of patients with the most frequent localizations observed among patients with MPN and to compare these characteristics with those of the patients diagnosed with the respective localization as a unique neoplasm in The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuta" Cluj-Napoca between 2008-2012.

Conclusion

In the current study, the mean age at diagnosis was similar in patients with MPN compared to patients with unique neoplasms for patients diagnosed with head and neck, uterine body, colorectal, prostate and lung cancer. For patients diagnosed with breast cancer with MPN, the mean age at diagnosis was higher compared to patients diagnosed with breast cancer as a single neoplasm.

The median interval between the diagnosis of the primary and second neoplasm in the case of metachronous tumors was 30.98 months. For patients diagnosed with colorectal cancer as the first localization, the median interval between the diagnosis of the primary and secondary neoplasm was 34.15 months, for patients diagnosed with uterine body cancer as the first localization this interval was 43.46 months, for patients diagnosed with prostate cancer 25.26 months, for patients diagnosed with breast cancer 33.01 months, for patients diagnosed with lung cancer 26.12 months and for patients diagnosed with head and neck cancers 33.32 months.

The most frequent associations in patients with synchronous MPN were ovarian cancer- uterine body cancer, head and neck cancer- head and neck cancer,

bladder cancer-prostate cancer, , head and neck cancer- esophageal cancer and uterine body cancer-breast cancer. For patients diagnosed with metachronous MPN, the most common associations were breast cancer-ovarian cancer, breast cancer-thyroid cancer, head and neck cancer- lung cancer, prostate cancer-lung cancer, lung cancer-colorectal cancer, colorectal cancer -prostate cancer and uterine body cancer-breast cancer.

In women, the most frequent associations were ovarian cancer- uterine body cancer, uterine body cancer-breast cancer, breast cancer-ovarian cancer, breast cancer- thyroid cancer, ovarian cancer-colorectal cancer, and cervical cancer-breast cancer. In men, the most frequent associations were bladder cancer-prostate cancer, head and neck cancer- head and neck cancer, head and neck cancer -lung cancer, skin cancer-skin cancer, head and neck cancer-esophageal cancer, prostate cancer-lung cancer, colorectal cancer-prostate cancer.

The 5-year overall survival for patients diagnosed with breast cancer with MPN was 89.9%, for patients diagnosed with lung cancer it was 19.3%, for patients diagnosed with head and neck cancer it was 33.2 % for patients diagnosed with prostate cancer it was 48.5%, for patients diagnosed with uterine body cancer it was 80.9% and for patients diagnosed with colorectal cancer it was 57.7%.

The 5-year overall survival from the diagnosis of the second neoplasm was 32%, and median survival from the diagnosis of the second neoplasm was 31.5 months.

Studiul 3- Cyclin D1 and p53 as potential predictive biomarkers for the development of multiple primary neoplasms

Working hypothesis/objectives

In this study, we proposed to evaluate the expression of cyclin D1 and p53 as predictive factors for the development of MPN, cyclin D1 and p53 being proteins with a major role in cell cycle control, the overexpression of the two proteins representing an event commonly found in the carcinogenesis of multiple tumors.

Methods

Of the 278 patients with MPN diagnosed and treated in The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuta" Cluj-Napoca between 2008-2012, were selected 23 patients with MPN whose paraffin blocks were available in the archives of the Institute's Pathology Laboratory.

All 23 patients with MPN were diagnosed with solid tumors with various localizations and histologies.

With the 23 cases described above, a case-control study was performed. For each case it was randomly chosen from the institute's database, for the same period, a patient with a single neoplasm of the same age, gender and localization.

From both groups were excluded cases of patients with possible genetic predisposition, syndromic cases and iatrogen-induced cases and patients with carcinoma in situ irrespective of localization.

From the paraffin blocks of the 46 patients, sections were made at 5 microns, representative of areas where the malignant tumor was predominant. They were stained with antibodies to cyclin D1 (P2D11F11, Novocastra, dilution 1/40) and p53

(DO 7, Ventana, CC1 mild, incubation time with primary Ac 16 min), and the lamellae were analyzed with the 10X objective and 40x. The nuclear staining of the cyclin D1 and p53 samples was reported both as percentage (with an average of 5 HPF) and as color intensity.

Results

The proportion of patients with underexpressed cyclin D1 was higher among patients diagnosed with MPN compared to patients diagnosed with a single neoplasm. The analysis of color intensity for cyclin D1 showed that in patients with MPN cyclin D1 was statistically significantly less colored compared to patients with single neoplasm.

The expression of p53 and the p53 intensity observed was poorer in a larger proportion of MPN patients compared to patients diagnosed with a single neoplasm, but not statistically significant.

The association of cyclin D1 and p53 expression revealed that in MPN patients the two proteins were underexpressed in a larger proportion of patients compared to patients with single neoplasm, statistically significant when the underexpression of the two proteins was compared to the situation in which either of the two proteins was overexpressed or the two proteins were overexpressed.

Conclusion

The results of our study showed that in patients with MPN cyclin D1 and p53 are underexpressed compared to patients with single neoplasms, but for the validation of these results are required studies on larger number of patients.

General conclusion

The incidence of MPN among patients diagnosed and treated in The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuta" Cluj-Napoca between 2008-2012 was 0.8%.

Most patients with MPN presented with metachronous tumors with a median interval between the diagnosis of the primary and subsequent tumor of 30.98 months.

The median age at diagnosis was 60 years for both patients diagnosed with synchronous tumors as well as for patients diagnosed with metachronous tumors. Most patients diagnosed with MPN were adult patients included in the age group 15-64 years.

The most frequent primary tumors observed were breast cancer, head and neck cancers, colorectal cancer, ovarian cancer, prostate cancer and uterine body tumors, and the most frequent secondary tumors observed were breast cancer, colorectal cancer, uterine body cancer, head and neck cancers, lung cancer and thyroid tumors.

The most frequent tumors seen in women were breast cancer, uterine body cancer, ovarian cancer, cervical cancer, colorectal cancer and thyroid cancer.

The most frequent tumors seen in men were head and neck cancers, prostate cancer, lung cancer, colorectal cancer, bladder cancer and skin tumors.

The incidence of MPN among patients diagnosed and treated with breast cancer in The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuta" Cluj-Napoca between 2008-2012 was 0.7%. For patients diagnosed with breast cancer with MPN, the median age

at diagnosis was 60 years and the mean age was statistically significantly higher compared to patients diagnosed with breast cancer as single neoplasm (59.7 years vs. 55.6 years, $p = 0.011$). The median interval between the diagnosis of the primary and second neoplasm for patients diagnosed with breast cancer with MPN was 33.01 months. The most frequent associations observed in breast cancer patients with synchronous MPN were with gynecological cancers (uterine body cancer, cervical cancer and ovarian cancer) and with breast cancer, and in breast cancer patients with metachronous MPN the most frequent associations were with renal, thyroid, gynecological, bladder cancer, and Hodgkin's lymphoma.

The incidence of MPN among patients diagnosed with head and neck cancers was 2.4%. The median interval between the diagnosis of the primary and second neoplasm was 33.32 months for patients diagnosed with head and neck cancers with MPN. The association head and neck cancers - head and neck cancers was the most common association observed in head and neck cancers with MPN, followed by the association with esophageal cancer and lung cancer.

The incidence of MPN among patients diagnosed with colorectal cancers was 1.3%. For patients diagnosed with colorectal cancers with MPN, the median interval between the diagnosis of the primary and second neoplasm was 34.15 months. The most frequent associations observed in patients diagnosed with colorectal cancers with MPN were with genitourinary cancers (renal cancer, prostate cancer), gynecological cancers (ovarian cancer, cervical cancer), breast cancer and digestive cancers (cancer colorectal).

The incidence of MPN among patients diagnosed and treated with prostate cancer at The Oncology Institute "Prof.Dr.Ion Chiricuta" Cluj-Napoca between 2008-2012 was 2.4%. The median interval between the diagnosis of the primary and second neoplasm for patients diagnosed with prostate cancer with MPN was 25.26 months. The most frequent association observed in prostate cancer patients with MPN in our study was with bladder cancer followed by the association with renal cancer, colorectal cancer and lung cancer.

The incidence of MPN among patients diagnosed with lung cancer was 0.9% and the median interval between the diagnosis of the primary and second neoplasm was 26.12 months. The association lung cancer- head and neck cancers was the most frequent association observed in patients with lung cancer with synchronous MPN followed by the association with esophageal cancer. For patients diagnosed with lung cancer with metachronous MPN the most common associations observed were lung cancer-colorectal cancer, lung cancer- breast cancer.

The 5-year overall survival of patients with metachronous MPN was statistically significantly higher (68%) compared to patients with synchronous MPN (54%) ($p = 0.02$)

In patients with MPN cyclin D1, p53 as well as the cyclin D1 -p53 association were underexpressed compared to patients with single neoplasms.

Originality and innovative contributions of the thesis

The originality and innovative contributions of the thesis consist in the identification and the evaluation of the risk and prediction factors for the development of MPN and, on the basis of the results obtained, in the development of a protocol for the follow-up of cancer patients at risk for developing a second cancer with the purpose of the early diagnosis of a the second or even a third cancer. From our knowledge, this is the first study in Romania conducted on a large number of MPN patients treated in a single institute, with a complex analysis of MPN issues from the point of view of the incidence, possible risk factors involved in the etiology of MPN, frequent associations, results and toxicity of administered treatments and survival of patients diagnosed with MPN. Also, the follow-up protocol of oncological patients at risk of developing MPN would be the first such protocol developed at both national and international level.