

Invenția se referă la medicină, în special la genetica moleculară, ginecologie și oncologie și poate fi utilizată pentru pronosticul evoluției cancerului endometrial de stadiul I-II.

Nivelul înalt al morbidității prin cancer endometrial (CE), constituie o problemă majoră cu impact global în sănătatea publică. Cancerul endometrial reprezintă 4,8% din cazurile de tumori maligne și se situează, la nivel mondial, pe locul 6 în structura incidenței tumorilor maligne la femei (Vlahovic G., Crawford J. Activation of tyrosine kinases in cancer. In: *Oncologist*, 2003, vol. 8, nr. 6, p. 531-538).

În ceea ce privește creșterea ratei morbidității, CE ocupă constant locul 7 printre neoplazmele maligne la femei (Ганина К.П., Полищук Л.З., Бучинская Л.Г. Цитоморфология и цитогенетика рака эндометрия. Киев: Наукова думка, 1990. 160 с.). Creșterea constantă a incidenței CE se explică prin creșterea speranței medii de viață („îmbătrânirii”) în rândul populației și a nivelului de obezitate (Sofroni D., Tripac I. Caracteristica morfopatologică a tumorilor la pacientele cu risc sporit de cancer ereditar al organelor hormonodependente. In: *Culegere de articole și teze. Congresul III Național de Oncologie. Chișinău 2010.* p. 247; Sofroni D., Tripac I. ș.a. Cancer Registru Național al familiilor cu risc de cancer al organelor sistemului reproductiv la femei și colorectal; MD 1367 Y 2019.09.30; Гуцу Л., Трипак И. и др. Рак тела матки у женщин репродуктивного возраста. Факторы прогноза. В: *Материалы VII Съезда онкологов и радиологов стран СНГ.* Астана. 2012. с. 351-352; Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2003 г. Москва: Медицинское информационное агентство, 2004. 2798 с.). Incidența acestei patologii este în continuă creștere nu doar în rândul pacientelor cu vârstă înaintată, ci și în rândul tinerelor.

Conform datelor Registrului Național de Cancer al Republicii Moldova, în ultimii cinci ani s-a înregistrat o creștere a morbidității cancerului organelor sistemului reproductiv feminin. Conform datelor statistice, furnizate de Registrul Național de Cancer în Republica Moldova, în 2020 incidența prin cancer endometrial a constituit 515 de cazuri, mortalitatea fiind de 92 de cazuri. Peste 77,0% dintre cazuri sunt diagnosticate în stadiile incipiente (stadiile I și II), cu o rată înaltă de supraviețuire la 5 ani (Belev N., Tripac I. ș.a. Programul screeningului și monitoringului familiilor canceroase în rep. Moldova. Comunicarea II. Cercetarea rudelor asimptomatice. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei.* 2010, vol. 27, nr. 4, p. 238-243).

Ca urmare a unei analize detaliate, rezultatele supraviețuirii la 5 ani variază în limitele stadiului I și constituie în stadiul Ia – 91...95%, iar în stadiul Ib – 80...65% (Belev N., Tripac I. ș.a. Programul screeningului și monitoringului familiilor canceroase în rep. Moldova. Comunicarea II. Cercetarea rudelor asimptomatice. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei.* 2010, vol. 27, nr. 4, p. 238-243; Belev N., Tripac I. ș.a. Programul screeningului și monitoringului familiilor canceroase în Republica Moldova. Comunicarea I. Cercetarea rudelor asimptomatice. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei.* 2010, vol. 27, nr. 4, p. 232-238). Supraviețuirea la 5 ani în stadiul II a constituit 50,6% (Sofroni D., Tripac I. ș.a. Cancerul endometrial. Particularitățile clinice, ultrasonografice și histologice. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei.* 2010, vol. 27, nr. 4, p. 86-89). Incidența cancerului endometrial între 40 și 54 de ani crește brusc, cu un vârf la vârsta de 60...64 de ani. În grupele de vârstă de 40...49 și 50...56 de ani, există o creștere semnificativă a incidenței.

Astfel, cancerul endometrial este depistat în principal la femeile din grupa de vârstă mai înaintată. Incidența acestei patologii este în continuă creștere și nu numai în rândul pacientelor din grupul de vârstă mai înaintată, ci și în rândul tinerilor. Astfel, proporția pacientelor cu CE sub vârsta de 45 de ani a ajuns la 4,1%.

Potrivit Agenției Internaționale de Cercetare a Cancerului, menținând în același timp dinamica morbidității, fertilității și mortalității existente în 2020, numărul pacientelor cu cancer endometrial sub 45 de ani va crește cu 37%.

Rata de supraviețuire la cinci ani a pacientelor cu cancer endometrial în stadiul I după tratament, conform diferitor autori, variază în funcție de profunzimea invaziei în miometru de la 97,5 (cu invazia mai mică de 5 mm) la 61,5% (cu invazia mai mare de 10 mm), în funcție de gradul de diferențiere de la 81% la paciente cu tumori înalt diferențiate la 42% la paciente cu tumori slab diferențiate (Сдвижков А.М. и др. Маммографический скрининг рака молочной железы. Проблемы организации и результаты осуществления. В: *Информационный бюллетень московского онкологического общества*, 2006, № 11, с. 3-4; Трипак И.Е. Морфологические особенности наследственного рака женских репродуктивных органов. Международная конференция молодых онкологов. Киев. 2008. с. 45).

Comportamentul biologic al tumorilor rămâne destul de neclar chiar și pentru pacientele în stadiu incipient al procesului. În acest sens, rămâne urgentă problema dezvoltării unor factori de prognostic obiectiv, care ar putea caracteriza nu numai caracteristicile clinice ale pacienților cu CE, ci și caracteristicile biochimice ale tumorii în sine, care împreună ar permite precizarea atât a evoluției bolii, cât și a probabilității de recidivă.

Astfel, cercetările au făcut posibilă studierea unor aspecte patogenetice: epimutației MLH1 de a efectua o analiză comparativă a caracteristicilor clinice, antropometrice, biochimice, histopatologice ale pacientelor cu CE, care a făcut posibilă identificarea unor criterii informative obiective de prognostic și predicție pentru precizarea evoluției bolii la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc în baza aspectelor molecular-genetice.

Una dintre anomaliile genomice depistate în carcinomul endometrioid sunt modificările în repetarea secvențelor de acid dezoxiribonucleic (ADN), așa numiții microsatețiți - fenomenul instabilității microsatețiților (IM) - un defect în repararea bazelor de ADN nepereche (Sofroni D., Tripac I. ș.a. Cancerul endometrial. Particularitățile clinice, ultrasonografice și histologice. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei.* 2010, vol. 27, nr. 4, p. 86-89). Aceste

schimbări reflectă diverse daune ale genelor supresoare tumorale: MSH2, MSH3, MSH6, MLH1, PMS2 (Belev N., Tripac I. ș.a. Programul screeningului și monitoringului familiilor canceroase în Republica Moldova. Comunicarea I. Cercetarea rudelor asimptomatice. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. 2010, vol. 27, nr. 4, p. 232-238; Sofroni D., Tripac I. ș.a. Cancer Regstru Național al familiilor cu risc de cancer al organelor sistemului reproductiv la femei și colorectal; MD 1367 Y 2019.09.30; Tripac I. ș.a. Managementul clinico-diagnostic în depistarea stadiilor incipiente a neoformațiilor maligne și proceselor precanceroase în familiile cu risc de cancer).

Este cunoscută metoda de stabilire a pronosticului cancerului endometrial, care constă în efectuarea unor investigații clinice și morfologice și anume determinarea stadiului bolii în dependență de tabloul clinic, gradul de diferențiere, varianta patogenetică prin investigații histologice, și în cazul în care este un stadiu mai avansat, este o tumoare mai puțin diferențiată și o variantă patogenetică cum este cea autonomă, se pronostichează o evoluție nefavorabilă a cancerului endometrial [1].

Dezavantajele metodei cunoscute constau în aceea că investigațiile clinice și morfologice sunt de lungă durată, sunt necesare efectuarea unor intervenții chirurgicale pentru prelevarea țesuturilor pentru examenul histologic, totodată, acestea nu pot fi efectuate în toate instituțiile medicale.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unei metode eficiente pentru stabilirea pronosticului cu scop de a indica un tratament eficient pentru formele agresive cu evoluție nefavorabilă la stadii incipiente ale bolii și cu reducerea numărului de investigații, care sunt invazive, de lungă durată și costisitoare.

Esența invenției constă în aceea că se efectuează analiza ADN-ului genomic izolat cu utilizarea reacției de polimerizare în lanț unde se stabilește prezența epimutației MLH1, în cazul în care se determină prezența ei, se pronostichează o evoluție nefavorabilă a cancerului endometrial, iar în cazul în care nu se stabilește prezența epimutației se pronostichează o evoluție favorabilă a bolii.

Rezultatul invenției constă în stabilirea eficientă a pronosticului cancerului endometrial, în urma căruia este stabilit un tratament eficient sau radical într-o perioadă mai timpurie în urma stabilirii unui pronostic nefavorabil a evoluției bolii.

Avantajul metodei revendicate constă în aceea că nu sunt necesare efectuarea investigațiilor clinice și morfologice pentru stabilirea pronosticului cu scop de stabilire a tratamentului necesar și care sunt de lungă durată și costisitoare. Metoda se efectuează în modul următor.

Se efectuează analiza ADN-ului genomic izolat cu utilizarea reacției de polimerizare în lanț unde se stabilește prezența epimutației MLH1, în cazul în care se determină prezența ei, se pronostichează o evoluție nefavorabilă a cancerului endometrial, iar în cazul în care nu se stabilește prezența mutației se pronostichează o evoluție favorabilă a bolii.

Odată cu aplicarea metodelor de diagnostic molecular-genetic, inclusiv reacția de polimerizare în lanț (PCR), a devenit posibilă investigarea rapidă și precisă a diferitor regiuni de interes ale genomului uman.

În prezentul studiu au participat 50 de femei cu cancer endometrial (CE) și au fost supuse testării genetice moleculare (PCR) pentru a determina epimutația MLH1.

La studierea instabilității microsatelitare (IM) la 50 de paciente cu CE în stadiile I-II, cu vârsta cuprinsă între 30 și 80 de ani, a arătat că frecvența depistării epimutației MLH1 a constituit 20,0% și a fost determinată la 10 paciente.

Analiza comparativă între grupurile de studiu a arătat că prezența MLH1 a fost de 2 ori mai frecventă la pacientele din grupul cu risc crescut și a constituit 8%, comparativ cu grupurile de risc intermediar-crescut, intermediar și scăzut, unde prezența epimutației a fost egală.

Analiza corelațională între depistarea CE și faza biologică a organismului a demonstrat (tabelul 1): frecvența tumorilor cu instabilitate a microsateliților are un model clar - crește în perioada menopauzei, ajungând la 30,0% la vârsta de 50...59 de ani și 50,0 % din cazuri la 60...69 de ani și scade în perioadele de vârstă 70...79 de ani, adică în postmenopauză, ajungând 20,0%.

Distribuția pacientelor cu CE în funcție de vârstă și prezența epimutației MLH1

Tabelul 1

Vârsta	Prezența MLH1	
	Abs.	%
30...39	-	-
40...49	2	20,0
50...59	3	30,0
60...69	5	50,0
70...79	2	20,0

La femeile aflate în perioadă postmenopauzală, epimutația este rar detectată, deși, în general, numărul mutațiilor genetice crește odată cu vârsta. Datele noastre indică o posibilă relație între dereglările hormonale legate de vârstă și CE, deoarece adenocarcinomul postmenopauzal se dezvoltă adesea din endometru atrofie.

Analiza rezultatelor obținute a arătat că la pacientele cu CE, prezența epimutației MLH1 a fost semnificativ mai mare în stadiul I al bolii. Prezența epimutației MLH1 a fost observată la 22,0% dintre pacientele cu CE în stadiul I și doar la 2 paciente în stadiul II (tabelul 2).

Dependența MLH1 de stadiul bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II Tabelul 2

Stadiul bolii	MLH1				P
	Negativ		Pozitiv		
	Abs.	%	Abs.	%	
I	34	68,0	8	22,0	$\chi^2=0,001$; gl=1; p>0,05
II	6	8,1	2	4	

Rezultatele determinării epimutației genei MLH1 în funcție de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu CE sunt prezentate în tabelul 3.

Dependența prezenței epimutației MLH1 de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II din diferite grupuri de risc

Tabelul 3

Gradul de diferențiere	Grupul de risc								P
	Risc scăzut		Risc intermediar		Risc intermediar-crescut		Risc crescut		
	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	
Scăzut	-	1	3	2	3	2	3	4	$\chi^2=1,480$; gl=2; p>0,05
Moderat	10	1	3	-	5	-	2	-	$\chi^2=2,806$; gl=2; p>0,05
Înalt	4	-	1	-	-	-	2	-	$\chi^2=0,231$; gl=1; p>0,05

La analiza rezultatelor obținute, s-a relevat că la pacientele cu CE, în toate grupurile de risc, s-a înregistrat absența epimutației MLH1 în cazul gradului înalt de diferențiere tumorală și prezența epimutației la un grad scăzut de diferențiere. Nu au existat diferențe semnificative, dar s-a observat o tendință – odată cu creșterea gradului de diferențiere a tumorii, frecvența de detectare a epimutației MLH1 scade.

Așa dar, putem concluziona predominarea formelor cu un grad de diferențiere scăzut la pacientele cu cancer endometrial asociat cu prezența epimutației MLH1, față de paciente cu CE cu grad înalt de diferențiere cu lipsa de epimutația menționată.

A fost studiat prezența epimutației MLH1 în funcție de profunzimea invaziei tumorale la pacientele cu CE în toate grupurile de risc (tabelul 4).

Dependența prezenței epimutației MLH1 de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial din diferite grupuri de risc

Tabelul 4

Profunzimea invaziei în miometru	Grupul de risc								P
	Risc scăzut		Risc intermediar		Risc intermediar-crescut		Risc crescut		
	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	
Infiltrază < 50%	9	2	2	-	-	-	-	1	$\chi^2=2,424$; gl=2; p>0,05
Infiltrază > 50%	-	-	6	2	3	2	7	3	$\chi^2=1,293$; gl=2; p>0,05

Analizând repartizarea pacientelor conform profunzimei invaziei în miometrul tumorii au fost obținute următoarele date: prezența epimutației MLH1 s-a detectat la 3 (3,0%) paciente cu invazia CE în miometru mai mică de 0,5 cm. La profunzimea invaziei în miometru mai mult de 50% epimutația a MLH1 este detectată mult mai des - la 7 (7%) paciente.

Astfel, rezultatele studiului au arătat o incidență suficient de mare a prezenței hipermetilării MLH1 care face parte din calea de reparare a ADN-ului la pacientele examinate. Vârsta medie a pacientelor din grupul cu risc crescut cu prezența epimutației MLH1 este semnificativ mai mică în comparație cu vârsta medie a pacientelor din grupul cu risc scăzut cu prezența epimutației MLH1; în grupul de paciente cu risc intermediar-crescut prezența epimutației MLH1 a predominat la femeile sub 50 de ani, în timp ce pacientele din grupul cu risc intermediar cu epimutația

MLH1 erau mai în vârstă. La pacientele din toate grupurile de risc odată cu prezența epimutației MLH1 se observă o scădere în diferențierea tumorală, cu predominarea formelor cu un grad de diferențiere scăzut în 7% din cazuri. La studierea răspândirii procesului tumoral în asociere cu epimutația MLH1 s-a observat depistarea mai frecventă a epimutației în 7 % din cazuri, fapt ce indică un potențial mai agresiv al acestor tipuri de tumori, caracterizat print-un pronostic nefavorabil al evoluției cancerului endometrial.

Exemplul 1

Pacienta D., 65 de ani, a fost internată în secție Oncoginecologie IMSP IO cu un diagnostic clinic de cancer endometrial T1bNxMo st. IB confirmat prin rezultatul histopatologic adenocarcinom endometrial moderat diferențiat. Cardiopatie ischemică, Insuficiență cardiacă gradul II după clasificarea NYHA, hipertensiune arterială gradul II, obezitate gradul III.

Anamneza bolii. Din anamneză s-a relevat că pacienta se consideră bolnavă timp de 5 luni, când a apărut metroragie pe fond de menopauză. Pacienta s-a adresat la locul de trai, unde a fost efectuat chiuretaj diagnostic și s-a confirmat diagnosticul clinic de cancer endometrial. Diagnosticul de diabet zaharat a fost stabilit cu 5 ani anterior, fără tratament specific.

Anamneza ginecologică. Menarha la 13 ani, ciclul menstrual a fost regulat. Pacienta are un istoric de 5 sarcini (2 nașteri și 3 avorturi). Menopauza – de la 54 ani. La o examinare ulterioară, a fost relevată o patologie concomitentă pronunțată: hipertensiune arterială, obezitate de gradul III.

Anamneza eredocolaterală. Patologie oncologică la rude de gradul I-II - absentă.

Status localis. Organele genitale externe dezvoltate corect. Vaginul curat, indolor. Colul uterin curat, indolor, mobil. Uterul de dimesiuni - 6 săptămâni, dur-elastic la palpate, indolor. Parametrii liberi, indolori. Fornixele libere, indolore. Eliminări transparente din căile genitale în cantitatea moderată.

Pacienta a fost supusă unui tratament combinat în volum de histerectomie totală cu anexele și radioterapie. Rezultatul histopatologic postoperator: adenocarcinom endometrial moderat diferențiat endometrial cu invazie mai puțin de 50% în miometru, cu localizarea procesului tumoral în fundul uterin, cu dimensiunea tumorii primare de 1,5 cm în diametru, fără răspândirea în canalul cervical. S-a efectuat studiul markerilor biologici moleculari ai tumorii endometriale. S-a determinat absența mutațiilor MLH1. Setul identificat de markerii molecular-genetici poate prezice un pronostic favorabil al CE. În prezent, pacienta se află la evidența la CCD IO timp de 36 de luni fără semne de recidivă sau progresare.

Exemplul 2

Pacienta K., 67 de ani, a fost internată în secție Oncoginecologie IMSP IO cu un diagnostic clinic de cancer endometrial T1bNxMo st. IB confirmat prin rezultatul histopatologic adenocarcinom endometrial moderat diferențiat. Diabet zaharat, tip II. Cardiopatie ischemică, Insuficiență cardiacă gradul II după clasificarea NYHA, hipertensiune arterială gradul II, obezitate de gradul III.

Anamneza bolii. Din anamneză s-a relevat că pacienta se consideră bolnavă timp de 7 luni, când a apărut metroragie pe fond de menopauză. Pacienta s-a adresat la locul de trai, unde a fost efectuat chiuretaj diagnostic și s-a confirmat diagnosticul clinic de cancer endometrial. Diagnosticul de diabet zaharat a fost stabilit cu 5 ani anterior, fără tratament specific.

Anamneza ginecologică. Menarha la 14 ani, ciclul menstrual a fost regulat. Pacienta are un istoric de 6 sarcini (2 nașteri și 4 avorturi). Menopauza – de la 53 ani. La o examinare ulterioară, a fost relevată o patologie concomitentă pronunțată: hipertensiune arterială, obezitate de gradul III.

Anamneza eredocolaterală. Patologie oncologică la rude de gradul I-II - absentă.

Status localis. Organele genitale externe dezvoltate corect. Vaginul curat, indolor. Colul uterin curat, indolor, mobil. Uterul de dimesiuni - 6 săptămâni, dur-elastic la palpate, indolor. Parametrii liberi, indolori. Fornixele libere, indolore. Eliminări transparente din căile genitale în cantitatea moderată.

Pacienta a fost supusă unui tratament combinat în volum de histerectomie totală cu anexele. În perioada postoperatorie – pacienta a primit tratament cu Metformină 500 mg×2 ori, per os. Plaga – cicatrizată per primum. Rezultatul histopatologic postoperator: adenocarcinom endometrial slab diferențiat endometrial cu invazie mai mult de 50% în miometru, cu localizarea procesului tumoral în fundul uterin, cu dimensiunea tumorii primare de 5,5 cm în diametru, fără răspândirea în canalul cervical. S-a efectuat studiul markerilor biologici moleculari ale cancerului endometrial. S-a determinat prezența epimutației MLH1. Setul identificat de markerii molecular-genetici poate prezice un pronostic nefavorabil al CE. În timpul examinării ulterioare, a fost obținute date privind recidiva locală, confirmate prin examenul histopatologic.