

Invenția se referă la medicină, în special la genetica moleculară, ginecologie și oncologie și poate fi utilizată pentru pronosticul 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 asimptomate. 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 asimptomate. 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 asimptomate. 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 necunoscut 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 prezicerea atât a evoluției bolii, cât și a probabilității de recidivă.

Astfel, cercetările au făcut posibilă studierea unor aspecte patogenetice: rolul genei PTEN 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 prezicerea evoluției bolii la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc în baza aspectelor molecular-genetice.

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, gradul de invazie în miometru, variantă patogenetică prin investigații histologice, și în cazul când este de un stadiu mai avansat, este o tumoare mai puțin diferențiată, cu gradul de invazie mai mult de 50% din grosimea miometrului

și o variantă patogenetică cum este cea autonomă, se pronosticează 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 de pronostic a evoluției cancerului endometrial de stadiul I-II, care înlătură dezavantajele metodei cunoscute, are o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și stabilirea unui tratament eficient timpuriu în dependență de evoluția bolii.

Esența invenției constă în aceea că se efectuează analiza ADN-ului genomic izolat cu utilizarea reacției de polimerizare în lanț, unde se determină prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN, în cazul în care se determină prezența ei, se pronosticează o evoluție nefavorabilă a cancerului endometrial, iar în cazul în care nu se determină prezența mutației, se pronosticează o evoluție favorabilă a bolii.

Rezultatul invenției constă în stabilirea eficiență 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, 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 determină prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN, în cazul în care se determină prezența ei, se pronosticează o evoluție nefavorabilă a bolii, iar în cazul în care nu se determină prezența mutației, se pronosticează o evoluție favorabilă a cancerului endometrial.

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 scopul confirmării metodei revendicate au fost studiate prezența sau lipsa mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN la pacientele cu cancer endometrial în dependență de factorul de risc, de forma patogenetică, vârstă, gradul de diferențiere și invazia cancerului endometrial în miometru.

La stabilirea grupului de risc s-a luat în considerare vârsta pacientei, stadiul bolii în conformitate cu FIGO, profunzimea invaziei în miometru, gradul de diferențiere și tipul tumorii (endometrioidă/non-endometrioidă), precum și implicarea în proces a vaselor limfatice (Dibaba D.T., Judd S.E., Gilchrist S.C. et al. Association between obesity and biomarkers of inflammation and metabolism with cancer mortality in a prospective cohort study. In: Metabolism. 2019, vol. 94, p. 69-76. DOI:10.1016/j.metabol.2019.01.007). Astfel, determinarea corectă a gradului de diferențiere și a tipului de tumoare reprezintă un aspect fundamental în elaborarea unui plan individual de tratament.

Mutațiile genei PTEN sunt printre leziunile genetice driver ale carcinomului endometrial, cele mai tipice pentru carcinoamele endometrioidice. În cazul cancerului endometrial, în mai mult de 50% din cazuri, gena supresoare PTEN este inactivată, ceea ce, potrivit multor autori, este o etapă cheie în malignitatea endometrială.

Rezultatele studiului mutației la 50 de paciente cu CE de stadiul I-II, conform grupului de risc sunt prezentate în tabelul 1. Analizând rezultatele obținute, am constatat prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN s-a depistat la 12 (24%) paciente cu CE.

Efectuând analiza prezenței mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN, conform grupului cu risc s-a constatat că pacientele din grupul cu risc crescut au prezentat mutația în gena PTEN de 8 ori mai frecvent față de pacientele din grupul cu risc scăzut.

Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN la pacientele cu CE în stadiile I-II conform grupului de risc
Tabelul 1

Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN	Grupul de risc								P
	Risc scăzut		Risc intermediar		Risc intermediar-crescut		Risc crescut		
	abs	%	abs	%	abs	%	abs	%	
Absență	16	3,2	8	16,0	6	12,0	2	4,0	$\chi^2=17,459$; $g1=3$; $p<0,01$
Prezentă	1	2,0	1	2,0	2	4,0	8	16,0	

Un interes sporit îl prezintă studierea mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN în diferite variante patogenetice ale CE.

Actualmente este cunoscut faptul că, prima variantă patogenetică a CE (hormon-dependență) are un pronostic mai favorabil, comparativ cu cea de-a doua variantă (autonomă). În prezentul studiu, din 50 paciente cu CE, 49 (98%) paciente au fost repartizate la prima variantă patogenetică, iar 1 (2%) pacientă a fost repartizată la a doua variantă patogenetică.

Metodele moderne de studiu a structurii ADN fac posibilă determinarea profilului genetic al tumorilor, care deseori nu coincide cu tabloul morfologic. Analiza datelor obținute a relevat că mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN a fost determinată la 36% dintre pacientele cu CE în prima variantă patogenică (tabelul 2).

Proporția tumorilor PTEN-pozitive la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în dependență de varianta patogenică

Tabelul 2

Varianta patogenică	Mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN				P
	Negativ		Pozitiv		
	Abs.	%	Abs.	%	
Hormonodependentă (I)	31	62	18	36	$\chi^2=0,574$; gl=1; p>0,05
Autonomă (II)	1	2	-	-	

Numărul pacientelor cu PTEN (+) în varianta patogenică I a CE a prevalat asupra numărului de paciente cu PTEN (+) în cazul variantei II (18% și 0%), ceea ce explică probabil evoluția mai favorabilă în varianta I. Dar, în ciuda acestui fapt, metodele moderne de studiu a structurii ADN fac posibilă determinarea profilului genetic al tumorilor, care deseori nu coincide cu tabloul morfopatologic.

Repartizarea pacientelor în funcție de vârstă și expresia PTEN este prezentată în tabelul 3.

Frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN conform vârstei pacientelor

Tabelul 3

Vârstă	PTEN	
	Abs.	%
30...39	1	8,3
40...49	1	8,3
50...59	6	50,0
60...69	8	66,6
70...79	2	16,6

Luând în considerare factorul de vârstă s-a depistat următoarele: frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN are un model clar - crește în perioada perimenopauzei, ajungând la 50,0% la vârsta de 50...59 de ani și 60...69% de cazuri la 60...69 de ani și scade în perioadele de vârstă de 70...79 de ani, adică în postmenopauză. Vârsta maximă la care este detectată mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN în serul sanguin este de 51...60 de ani. Odată cu vârsta, frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN scade. Datele noastre indică o relație clară între prezența PTEN în serul sanguin și vârsta pacientelor cu CE. Modelul dezvăluit este probabil influențat de starea hormonală a unei femei care se schimbă odată cu vârsta. Frecvența mai mică a mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN la femeile la o vârstă fragedă se datorează, în opinia noastră, aceluiași factori, adică unui număr mai mic de tulburări hormonale, metabolice și hiperplazii endometriale. La femeile aflate în postmenopauză, mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN este rar detectată, deși în general numărul tulburărilor genetice crește odată cu vârsta. Datele noastre indică o posibilă relație între dereglările hormonale legate de vârstă, procesele hiperplazice și CE, deoarece în adenocarcinomul postmenopauzal se dezvoltă adesea din endometru atrofie.

S-a analizat relația dintre prezența unei mutații c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN și a factorilor morfologici de pronostic - structura histologică a tumorii și gradul de diferențiere a acesteia, precum și nivelul invaziei tumorale în miometru.

Astfel, în prezența unei tumori înalt diferențiate, mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN a fost absentă în toate grupurile studiate. Odată cu creșterea gradului de malignizare tumorală, crește și frecvența mutațiilor genei PTEN în fiecare dintre grupurile studiate. Rezultatele determinării mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN în funcție de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu CE sunt prezentate în tabelul 4.

Dependența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN de gradul de diferențiere la pacientele cu CE în stadiile I-II conform grupului de risc

Tabelul 4

Gradul de diferențiere	Grupul de risc								P
	Risc scăzut		Risc intermediar		Risc intermediar-crescut		Risc crescut		
	PTEN -	PTEN +	PTEN -	PTEN +	PTEN -	PTEN +	PTEN -	PTEN +	
Scăzut	15	1	3	-	-	3	-	8	$\chi^2=15,698$; gl=2;

									p<0,001
Moderat	1	1	5	1	3	3	-	-	$\chi^2=1,659$; gl=2; p>0,05
Înalt	-	-	-	-	2	1	2	-	$\chi^2=2,359$; gl=1; p>0,05

Mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN a fost cel mai frecvent întâlnită în tumorile slab diferențiate. Astfel, 100% dintre tumorile de grad scăzut din grupul cu risc crescut au avut o mutație c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN. Mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN a fost, de asemenea, observată la 15,7% dintre tumorile moderat diferențiate și la 13,3% din tumorile înalt diferențiate.

Mutațiile genei PTEN au fost semnificativ mai frecvent observate în tumorile care infiltrază mai mult de jumătate din grosimea miometrului în toate grupurile studiate.

Astfel, în tumorile cu invazia miometrului până la jumătate din grosimea acestuia la grupul cu risc scăzut, doar 1 din 12 tumori au fost PTEN + (13,6%); întrucât tumorile cu invazie de peste jumătate din grosimea miometrului au fost observate în 6 din 8 cazuri (87,5%) din grupul cu risc crescut (tabelul 5).

Dependența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial conform grupului de risc

Tabelul 5

Profunzimea invaziei în miometru	Grupul de risc								P
	Risc scăzut		Risc intermediar		Risc intermediar-crescut		Risc crescut		
	PTEN -	PTEN +	PTEN -	PTEN +	PTEN -	PTEN +	PTEN -	PTEN +	
Infiltrază <50%	11	1	-	-	3	-	-	1	$\chi^2=7,619$; gl=2; p<0,05
Infiltrază >50%	-	-	8	1	2	3	2	6	$\chi^2=7,525$; gl=2; p<0,05

La analiza datelor obținute s-a constatat că atunci când invazia cancerului endometrial în miometru este mai mică de 0,5 cm, mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN este detectată în 11% din cazuri. Într-un proces tumoral larg răspândit, mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN este detectată mult mai des (57%).

Frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN la pacientele cu CE conform stadiului bolii

Tabelul 6

Stadiul bolii	Mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN				P
	Negativ		Pozitiv		
	Abs.	%	Abs.	%	
I	34	68,0	10	16,0	$\chi^2=0,001$; gl=1; p>0,05
II	6	8,1	2	4,0	

La analiza datelor obținute s-a constatat că la pacientele cu stadiul I al bolii prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei PTEN este de 16,0 % (tabelul 6).

Astfel, analiza datelor obținute a relevat că frecvența expresiei PTEN la pacientele cu CE depinde de gradul de diferențiere tumorală, de vârstă, de stadiul procesului tumoral, de grupul de risc și de profunzimea invaziei tumorale.

Exemplu

Pacienta I., 56 de ani, a fost internată în secție Oncoginecologie IMSP IO cu diagnosticul clinic de cancer endometrial T1bNxMo st. IB confirmat prin rezultatul histopatologic adenocarcinom endometrial moderat diferențiat. Diabet zaharat tip 2 compensat. Cardiopatie ischemică, insuficiență cardiacă 2 NYHA, hipertensiune arterială gr. II, obezitate, maladie varicoasă a membrelor inferioare.

Anamneza bolii.

Din anamneză s-a relevat că pacienta se consideră bolnavă timp de 4 luni, când a apărut metroragie în perioada menopauzei. 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 3 ani anterior. Pacienta nu a urmat tratament specific.

Anamneza ginecologică.

Menarha - la 13 ani, ciclul menstrual regulat. Pacienta are un istoric de 8 sarcini (3 nașteri și 5 avorturi). Menopauza - de la 52 ani. La o examinare ulterioară, a fost relevată o patologie concomitentă pronunțată: hipertensiune arterială, diabet de tip II, obezitate de gradul III.

Anamneza eredocolaterală.

Patologie oncologică la rude de gradul I-II - nu cunoaște. Mama, mătușa (sora mamei) - au suferit de diabet zaharat de tip II mai mult de 15 ani.

Status localis.

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

Pacienta a fost supusă unui tratament chirurgical în volum de histerectomie totală cu anexele. Perioada postoperatorie a evoluat fără particularități. În perioada postoperatorie – pacienta a primit tratament cu Metformina 500mg×2 ori, per os. Plaga - cicatrizată per primum.

Rezultatul histopatologic postoperator: adenocarcinom endometrial moderat diferențiat cu invazie de 6 mm și răspândirea procesului tumoral la canalul cervical. S-a efectuat studiul imunohistochimic și molecular-genetic al tumorii endometriale: nivel ridicat de expresie, prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena PTEN, unde se pronosticează o evoluție nefavorabilă a cancerului endometrial. În prezent, pacienta este sub observație timp de 24 de luni, unde s-a stabilit un tratament intensiv și eficient. În timpul examinării ulterioare, a fost obținute date privind recidiva locală, confirmate prin examenul histopatologic.