

**INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL ONCOLOGIC
REPUBLICA MOLDOVA**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 618.11-037:618.145-006.6

TRIPAC IRINA

**FACTORII MOLECULAR-GENETICI DE PROGNOSTIC
AL CANCERULUI ENDOMETRIAL ÎN STADIILE I-II**

321.20 – ONCOLOGIE ȘI RADIOTERAPIE

Teză de doctor habilitat în științe medicale

Consultant științific:

Frank Gheorghii,

doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar,

Academician al Academiei de Științe din Rusia

Autor:

Tripac Irina,

doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2023

© Tripac Irina, 2023

CUPRINS

ADNOTARE	5
PEZIOME	8
SUMMARY	11
LISTA TABELELOR	14
LISTA FIGURELOR	17
LISTA ABREVIERILOR	19
INTRODUCERE	21
1. ASPECTELE MOLECULAR-GENETICE ALE CANCERULUI ENDOMETRIAL. O ABORDARE MODERNĂ A PROBLEMEI	31
1.1. Epidemiologia clinică a cancerului endometrial și a sindromului metabolic	31
1.2. Concepte moderne ale patogeniei cancerului endometrial	35
1.3. Markeri moleculari ca factor de prognostic pentru cancerul endometrial.....	44
1.4. Rolul inflamației în cancerogeneză.	58
1.5. Aspectul practic	61
1.6. Concluzii la capitolul 1.....	63
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	64
2.1. Caracteristica materialului clinic	64
2.2. Caracteristica generală a cercetării	64
2.3. Metode de cercetare.....	78
2.4. Metodologie pentru prelucrarea statistică a rezultatelor cercetării.....	88
2.5. Concluzii la capitolul 2.....	90
3. ANALIZA CARACTERISTICILOR CLINICE ȘI MORFOLOGICE ALE PACIENTELOR CU CANCER ENDOMETRIAL ÎN STADIILE I-II	91
3.1. Caracteristici clinice, anamnestice, constituționale și reproductive la paciențele cu cancer endometrial în stadiile I-II	91
3.2. Caracteristicile morfologice ale cancerului endometrial de stadiile I-II	99
3.3. Inflamația sistemică ca predictor al cancerului endometrial în stadiile I-II	112
3.4. Concluzii la capitolul 3.....	115
4. FACTORII GENETICI MOLECULARI ÎN PROGNOSTICUL CANCERULUI ENDOMETRIAL	117
4.1. Determinarea markerului activității proliferative Ki-67 la paciențele cu cancer endometrial în stadiile I-II	117
4.2. Determinarea mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i> la paciențele cu cancer endometrial	122
4.3. Determinarea epimutației <i>MLH1</i> la paciențele cu cancer endometrial în stadiile I-II.....	126
4.4. Concluzii la capitolul 4.....	131

5. SEMNIFICAȚIA FACTORILOR CLINICO-MORFOLOGICI ȘI MOLECULAR-GENETICI DE PROGNOSTIC LA PACIENTELE CU CANCER ENDOMETRIAL ÎN STADIILE I-II..	132
5.1. Supraviețuirea generală și fără recidivare la trei ani a pacientelor cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de factorii de risc	132
5.2. Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani a pacientelor cu cancer endometrial în stadiile I-II	134
5.3. Concluzii la capitolul 5.....	143
6. PROGNOSTICUL EVOLUȚIEI CANCERULUI ENDOMETRIAL	145
6.1. Semnificația prognostică a caracteristicilor clinico-morfologice și molecular-genetice la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc.....	145
6.2. Modelul matematic de prognostic al evoluției bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II	147
6.3 Concluzii la capitolul 6.....	156
SINTEZA REZULTATELOR OBTINUTE	158
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	166
1. Concluzii.....	166
2. Recomandări practice	168
BIBLIOGRAFIE	169
Anexa 1. Chestionarul pacientelor cu cancer endometrial în stadiile I-II	189
Anexa 2. Designul studiului	192
Anexa 3. Brevet de invenție Nr 1367/2019	194
Anexa 4. Cerere de Brevet de invenție Nr 14100/2022.....	195
Anexa 5. Cerere de Brevet de invenție Nr 14099/2022.....	196
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	197
CURRICULUM VITAE AUTORULUI	198

ADNOTARE

Teza pentru gradul științific de doctor habilitat în medicină cu tema „Factorii molecular-genetici de prognostic al cancerului endometrial în stadiile I-II” a fost elaborată de către Tripac Irina în cadrul Instituției Medico-Sanitare Publice Institutul Oncologic, Chișinău, 2023. Structura tezei: introducere, 6 capitole, concluzii și recomandări practice, bibliografie din 206 titluri, 5 anexe, 161 pagini de text de bază, 32 figuri, 62 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate de către autor în 55 de lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: factori de prognostic, factori clinico-morfologici, factori molecular-genetici, model de prognostic, cancer endometrial

Domeniul de studiu: oncologie și radioterapie.

Scopul studiului: determinarea factorilor clinico-morfologici și molecular-genetici de prognostic al cancerului endometrial (CE) în stadiile I-II pentru elaborarea modelului matematic de predicție a recidivelor și supraviețuirii pacienților pe o perioadă de până la 3 ani.

Obiectivele lucrării: stabilirea criteriilor clinice, morfologice, imunohistochimice ca factorii de prognostic ai CE; estimarea corelației datelor imunohistochimice și molecular-genetice în funcție de caracteristicile clinice și morfologice ale cancerului de endometru; estimarea profilului molecular al tumorii la paciențele lotului de studiu; analiza multifactorială al complexului criteriilor de prognostic stabilite cu determinarea valorii de prognostic pentru fiecare factor aparținând la paciențele cu CE în stadiile I-II; crearea modelului matematic al evaluării complexe de prognostic al CE în stadiile I-II în funcție de grupurile de risc și de factorii de prognostic.

Noutatea și originalitatea științifică: pentru prima dată a fost cercetată interfața biomarkerilor evenimentelor fiziopatologice principale ce se referă la declanșarea și evoluția cancerului endometrial în stadiul I și II. S-a estimat rolul echilibrului între procesele extreme iminente CE, cum ar fi apoptoza celulară și proliferarea celulară în contiguitate cu angiogeneza tumorii pentru a consolida markerii cu valoare predictivă asupra prognosticului patologiei.

Problema științifică soluționată în teză: problema științifică soluționată în teză constă în aceea, că cercetarea bazată pe studii clinico-morfologice și molecular-genetice a decelat mecanisme patogenetice inedite și predictorii ai exacerbarii CE, cum ar fi prezența epimutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*, metilării promotorului genei *MLH1*, markerului de proliferare Ki-67, creșterea indicelui neutrofile/limfocite, fapt ce a permis elaborarea unui model matematic pentru prezicerea evoluției bolii la paciențele cu CE din diferite grupuri de risc.

Semnificația teoretică: prin dovezile concludente obținute este completat conceptul și suportul teoretic al cancerului endometrial. La această formă este importantă decantarea aportului mutației c.389G>A a genei *PTEN*, creșterii activității proliferative a ciclului mitotic evaluată prin

intermediul creșterii antigenului Ki-67, mutației genei *p53* rezultante în deprecierea raportului *Bax/Bcl2*. Totodată, este evidențiat rolul inflamației în promovarea CE, iar majorarea indicelui neutrofile/limfocite este nu numai un mecanism patogenetic, dar și un predictor fezabil al prognosticului tumorii. Este conceptual importantă legătura notabilă a CE cu creșterea masei corporale, precum și absența legăturii între CE vizavi de riscul recurenței pe o parte și caracteristicile menstruației, numărului de nașteri și avorturi spontane pe de altă parte. Valoare predictivă asupra creșterii riscului de recurențe la paciențele cu CE este atribuită unor factori inerenți patologiei organelor reproductive, cum ar fi chistul ovarian, miomul uterin și mastopatia fibrochistică. Rata adenocarcinomul papilar seros în lotul paciențelor cu CE cu stadiul II este în medie cu 44-48% mai mare comparativ cu indicele stadiului IA și IB. Gradul diferențierii tumorale are impact concludent asupra riscului recurenței, astfel că gradul scăzut de diferențiere se estimează în 95% la paciențele de risc crescut, iar gradul înalt de diferențiere este caracteristic riscului scăzut (80%). Remarcabil, că profunzimea invaziei tumorii nu corelează autentic cu creșterea riscului. Prezența focarelor necrotice este un predictor veritabil al riscului crescut. Impactul inflamației se impune prin valori maxime ale raportului neutrofile/limfocite și raportului trombocite/limfocite la paciențele cu CE de risc crescut. Markerul proliferației Ki-67 este în raport direct cu gradul de risc, precum și cu stadiul bolii (nivelul expresiei Ki-67>49% este decelat numai în grupul de risc crescut). Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* este în grupul riscului crescut de 4-8 ori mai mare comparativ cu grupurile de risc intermediar și intermediar-crescut. Important este prezența acestei mutației numai la paciențele cu paternul hormondependent al tumorii în proporție de 36%, dar stadiul II al bolii se impune prin reducerea ratei mutației genei *PTEN* versus stadiul I. Epimutația *MLH1* nu demonstrează o legătură atât de concludentă cu evoluția CE comparativ cu mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*.

Valoarea aplicativă: pe un material clinic probatoriu vast a fost apreciată semnificația clinică a expresiei markerilor biologici moleculari care caracterizează apoptoza, proliferarea celulară și angiogeneza în țesutul tumoral la paciențele cu CE în stadiul I și II. Au fost determinate criteriile clinice, morfologice, imunohistochimice, și genetice precise de diagnostic și prognostic al CE la paciențele cu cancer endometrial în stadiile I-II. Au fost evidențiate caracteristicile imunohistochimice ale CE (expresia Ki-67), prezența mutației c.389G>A a genei *PTEN*, identificarea metilării promotorului genei *MLH1* și corelația în funcție de caracteristicile clinico-morfologice ale cancerului endometrial la paciențele lotului de studiu cu elaborarea profilului molecular al tumorii pentru fiecare pacient. Această abordare permite de a efectua o analiză detaliată a valorii de prognostic pentru fiecare factor aparte, ce va permite identificarea celor mai principali factori de prognostic. A fost elaborat un model propriu de prognostic, care include

caracteristici clinice, morfologice, imunologice, imunohistochimice și genetice ale cancerului endometrial. Supraviețuirea pacienților cu CE pe o perioadă de supraveghere de 3 ani este minimală (72,2%) în rândul celor cu vârsta mai mare de 60 de ani și care fac parte din grupul de risc crescut al recurenței. Rata de supraviețuire fără recidive este de asemenea minimală la aceste paciente (44%). Totodată, rata metastazelor la pacientele cu CE nu corelează inteligibil cu stadiul bolii. Timpul mediu de progresie a CE este în raport indirect cu valoarea raportului neutrofile/limfocite, acesta fiind minimal (6 luni: de la 5 până la 9 luni) la pacientele de risc crescut de recurență ce au un INL > 5,0. Markerul Ki-67 are valoare predictivă certă asupra ratei de supraviețuire și de recidivă la pacientele cu CE, astfel, că activitatea proliferativă sporită (>49%) are impact negativ la distanța de 3 ani. Prezența epimutației *MLH1* de asemenea influențează recidiva bolii la pacientele cu CE la distanța de 3 ani, dată fiind valoarea minimală a timpului mediu până la progresare de 10,5 ani atestat la purtătoarele acestei mutații din grupul de risc crescut.

Implementarea rezultatelor științifice: Rezultatele studiului au fost raportate la 8 foruri naționale și 18 internaționale. Pe marginea cercetării au fost validate: 3 brevete de invenții. Rezultatele studiului vor fi expuse sub forma unor recomandări practice pentru medicii de familie, ginecologi, dar și pentru specialiștii din domeniul oncologiei. În activitatea clinică a Laboratorului Biologia Cancerului a IMSP Institutul Oncologic vor fi elaborate și implementate programe de cercetare molecular-genetică a CE cu stabilirea subtipului molecular al tumorii. Astfel, va fi eficientizată estimarea evoluției cancerului endometrial în stadiile I-II, ceea ce va permite aplicarea acestuia în conformitate cu criteriile elaborate.

РЕЗЮМЕ

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук на тему: «Молекулярно-генетические факторы прогноза рака эндометрия I-II стадии» выполнена Трипак Ириной Евгеньевной в Медико-Санитарном Публичном Учреждении Институт Онкологии, Кишинэу, 2023. Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов и практических рекомендаций. Работа изложена на 161 печатных страницах, содержит 62 таблиц, 32 рисунка. Библиография представлена 206 источниками. Полученные результаты были опубликованы в 55 научных работах.

Ключевые слова: прогностические факторы, клиничко-морфологические факторы, молекулярно-генетические факторы, прогностическая модель, рак эндометрия

Область исследования: Онкология и лучевая терапия.

Цель исследования: определение клиничко-морфологических и молекулярно-генетических факторов прогноза рака эндометрия (РЭ) I-II стадий для разработки математической модели прогнозирования рецидивов и выживаемости пациенток на срок до 3 лет.

Задачи исследования: установить клинические, морфологические, иммуногистохимические критерии как прогностические факторы РЭ; оценить корреляции иммуногистохимических и молекулярно-генетических данных по клиничко-морфологическим характеристикам рака эндометрия; оценить молекулярный профиль опухоли у пациентов основной группы; провести многофакторный анализ комплекса установленных прогностических критериев с определением прогностического значения каждого отдельного фактора у больных РЭ I-II стадии; создание математической модели комплексной прогностической оценки РЭ I-II стадий.

Научная новизна и оригинальность: впервые исследовано взаимодействие биомаркеров основных патофизиологических событий, связанных с возникновением и развитием рака эндометрия на I и II стадиях. По оценкам, роль баланса между такими процессами РЭ, как клеточный апоптоз и пролиферация в сочетании с опухолевым ангиогенезом, усиливает маркеры, имеющие прогностическое значение для данной патологии.

Решенная научная проблема: в диссертации на основании клиничко-морфологических и молекулярно-генетических исследований выявлены новые патогенетические механизмы и предикторы обострения РЭ, такие как наличие эпимутации c.389G>A (p.R130Q) гена *PTEN*, метилирование промотора гена *MLH1*, маркера пролиферации Ki-67, повышение нейтрофильно-лимфоцитарного индекса, что позволило

разработать математическую модель для прогнозирования эволюции заболевания у больных РЭ из разных групп риска.

Теоретическое значение: полученные убедительные доказательства дополняют концепцию и теоретическую основу рака эндометрия. На этом этапе важно оценить вклад мутации с.389G>A гена *PTEN*, повышение пролиферативной активности клеток, оцениваемое по увеличению экспрессии антигена Ki-67, приводящий к снижению соотношения *Bax/Bcl2*. При этом подчеркнута роль воспаления в стимуляции РЭ, а повышение нейтрофильно-лимфоцитарного индекса является не только частью патогенетического механизма, но и возможным предиктором опухолевого прогноза. Прогностическое значение повышенного риска рецидива у пациенток с РЭ следует придавать патологическим процессам репродуктивных органов, таким как киста яичника, миома матки и фиброзно-кистозная мастопатия. Частота серозно-папиллярной аденокарциномы в группе больных со II стадией РЭ в среднем на 44-48% выше показателя IA и IB стадии. Показано, что степень дифференцировки опухоли оказывает решающее влияние на риск рецидива, так, низкая степень дифференцировки определялась в 95% больных высокого риска, а высокая степень дифференцировки характерна в группе низкого риска (80%). Примечательно, что глубина инвазии опухоли на нашем материале не коррелировала с увеличением риска рецидивирования. Наличие очагов некроза является верным предиктором повышенного риска рецидива. Показано, что влияние воспаления проявляется максимальными значениями соотношения нейтрофилы/лимфоциты и тромбоциты/лимфоциты у больных РЭ высокого риска. Маркер пролиферации Ki-67 также напрямую связан со степенью риска, стадией заболевания (уровень экспрессии Ki-67 >49% выявляется только в группе высокого риска). По нашим данным наличие эпимутации с.389G>A (p.R130Q) гена *PTEN* выявлено в группе высокого риска в 4-8 раз чаще по сравнению с промежуточным и промежуточно-высоким риском. Эпимутация *MLH1* не показала убедительной связи с прогнозом РЭ.

Практическая ценность: разработана собственная прогностическая модель, включающая клинические, морфологические, иммунологические, иммуногистохимические и генетические характеристики рака эндометрия I-II стадии. Выживаемость пациентов с РЭ за 3-летний период наблюдения минимальна (72,2%) среди лиц старше 60 лет и относящихся к группе повышенного риска рецидива. Безрецидивная выживаемость у этих больных также минимальна (44%). Среднее время до прогрессирования РЭ косвенно связано с величиной соотношения нейтрофилов/лимфоцитов, которое минимально (6 мес.: 5-9 мес.) у пациентов с высоким риском рецидива с индексом НЛИ > 5,0. Маркер Ki-67

имеет определенную прогностическую ценность в отношении выживаемости и частоты рецидивов у пациентов с РЭ, так что повышенная пролиферативная активность (>49%) оказывает негативное влияние на протяжении 3 лет. Наличие эпимутации *MLH1* также влияет на рецидив заболевания у больных РЭ на протяжении 3 лет, вне зависимости от стратификации группы риска.

Внедрение научных результатов: Результаты исследования были представлены на 8 национальных и 18 международных форумах, подтверждено 3 патента на изобретения. Результаты исследования будут представлены в виде практических рекомендаций для семейных врачей, гинекологов, а также для специалистов в области онкологии. В клинической деятельности Лаборатории биологии рака Медико-Санитарного Публичного Учреждения Института Онкологии будут разработаны и реализованы программы молекулярно-генетических исследований РЭ с установлением молекулярного подтипа опухоли. Таким образом, будет упрощена оценка эволюции рака эндометрия на I-II стадиях, что позволит применять ее в соответствии с разработанными критериями.

SUMMARY

The dissertation for doctor in philosophy in medicine on topic: “Molecular-genetic factors for the prognosis of endometrial cancer in stages I-II” was elaborated by Tripac Irina in the Public Medico-Sanitary Institution Institute of Oncology, Chisinau, 2023. This work includes an introduction, 6 chapters, conclusions and practical recommendations. The paper contains 161 typed pages, 62 tables, 32 schemes. The bibliography list includes 206 sources. The results obtained have been published in 55 scientific papers.

Key-words: Prognostic factors, clinical-morphological factors, molecular-genetic factors, prognostic model, endometrial cancer

Study domain: Oncology and radiotherapy.

The aim of the study: determination of clinical, morphological and molecular genetic factors of endometrial cancer (EC) stages I-II to develop a mathematical model for predicting relapses and patient survival for up to 3 years.

Objectives of the study: To establish the clinical, morphological, immunohistochemical criteria as prognostic factors of the endometrial cancer (EC); estimating the correlation of immunohistochemical and molecular-genetic data according to the clinical and morphological characteristics of endometrial cancer; estimating the molecular profile of the tumour in the patients of the study group; multifactorial analysis of the complex of prognostic criteria established with the determination of the prognostic value for each separate factor in patients with EC in stage I-II; creation of the mathematical model of the complex prognostic evaluation of the EC in stages I-II according to the risk groups and the prognostic factors.

Scientific novelty and originality: The mathematical model allows complex analysis of the prognostic factors of the evolution of endometrial cancer, based on the molecular profile of the tumour and the characteristics that make it possible to predict the response of the tumour to treatment. Determining the expression of Ki-67, PDL1, *MLH1* proteins presents useful information about the biological behaviour of the tumour already in the early stages of EC.

The solved scientific problem: The scientific problem solved in the thesis is that research based on clinical-morphological and molecular-genetic studies has found novel pathogenic mechanisms and predictors of EC exacerbation, such as the presence of c.389G>A epimutation (p.R130Q) of the *PTEN* gene, methylation of the *MLH1* gene promoter, the Ki-67 proliferation marker, the increase of the neutrophil-lymphocyte index, which allowed the development of a mathematical model to predict the evolution of the disease in patients with EC from different risk groups.

Theoretical significance: The conclusive evidence obtained completes the concept and theoretical support of endometrial cancer. At this point, it is important to decant the contribution of the c.389G>A mutation of the *PTEN* gene, the increase of the proliferative activity of the mitotic cycle evaluated by the increase of the Ki-67 antigen, the mutation of the *p53* gene resulting in the depreciation of the *Bax/Bcl2* ratio. At the same time, the role of inflammation in promoting the EC is highlighted, and the increase in the neutrophil/lymphocyte index is not only a pathogenic mechanism, but also a feasible predictor of tumour prognosis. It is conceptually important that the EC has a significant link with the increase in body mass, as well as the absence of a link between the EC with regard to the risk of recurrence on the one hand and the characteristics of menstruation, births and miscarriages on the other. Predictive value on the increased risk of recurrence in patients with EC is attributed to factors inherent in the pathology of reproductive organs, such as ovarian cyst, uterine fibroids and fibrocystic mastopathy. The rate of serous papillary adenocarcinoma in the group of patients with stage II EC is on average 44-48% higher compared to the index of stage IA and IB. The degree of tumour differentiation has a conclusive impact on the risk of recurrence, so that the low degree of differentiation is estimated at 95% in high-risk patients, and the high degree of differentiation is characteristic of low risk (80%). Remarkably, the depth of the tumour invasion does not really correlate with the increase in risk. The presence of necrotic foci is a true predictor of increased risk. The impact of inflammation is imposed by maximum values of the ratio neutrophils/lymphocytes and platelets/lymphocytes in patients with high-risk EC. The marker of Ki-67 proliferation is directly related to the degree of risk as well as to the stage of the disease (the level of Ki-67 expression > 49% is detected only in the high risk group). The presence of the c.389G>A mutation (p.R130Q) of the *PTEN* gene is in the 4-8 times higher risk group compared to the intermediate and intermediate-increased risk. Important is the presence of this mutation only in patients with a hormone-dependent pattern of tumour in 36%, but stage II disease is required by reducing the rate of *PTEN* gene mutation vs. stage I. *MLH1* epimutation does not show such a conclusive link with EC c.389G>A (p.R130Q) of the *PTEN* gene.

Practical value of the study. The clinical significance of the expression of molecular biological markers that characterize apoptosis, cell proliferation and angiogenesis in tumour tissue in patients with stage I and II EC has been assessed on a wide range of clinical evidence. Precise clinical, morphological, immunohistochemical, and genetic criteria for EC diagnosis and prognosis in patients with stage I-II endometrial cancer have been determined. The immunohistochemical characteristics of EC (Ki-67 expression), the presence of the c.389G>A mutation of the *PTEN* gene, the identification of the methylation of the *MLH1* gene promoter and the correlation according to the clinical-morphological characteristics of endometrial cancer in

patients of the study group with molecular profile were highlighted of the tumour for each patient. This approach allows to perform a detailed analysis of the prognostic value for each particular factor, which will allow the identification of the main prognostic factors. Its own prognostic model has been developed, which includes clinical, morphological, immunological, immunohistochemical and genetic characteristics of endometrial cancer. The survival of patients with EC over a 3-year surveillance period is minimal (72.2%) among those older than 60 years and belonging to the high risk group of recurrence. The relapse-free survival rate is also minimal in these patients (44%). At the same time, the rate of metastases in patients with EC is not intelligibly correlated with the stage of the disease. The mean time to progression of the EC is indirectly related to the value of the neutrophil/ lymphocyte ratio, which is minimal (6 months: 5 to 9 months) in patients at high risk of recurrence with an INL index>5.0. The Ki-67 marker has a definite predictive value on the survival and recurrence rate in patients with EC, so that increased proliferative activity (>49%) has a negative impact at a distance of 3 years. The presence of *MLH1* epimutation also influences the recurrence of the disease in patients with EC at a distance of 3 years, given the minimum value of the mean time to progression of 10.5 years attested to the carriers of this mutation in the high risk group.

Implementation of scientific results: The results of the study were reported to 8 national and 18 international forums. On the research side, 3 invention patents were validated. The results of the study will be presented in the form of practical recommendations for family doctors, gynecologists, but also for oncology specialists. In the clinical activity of the Cancer Biology Laboratory of the IMSP Oncological Institute, EC molecular-genetic research programs will be developed and implemented with the establishment of the molecular subtype of the tumor. Thus, the estimation of the evolution of endometrial cancer in stages I-II will be streamlined, which will allow its application in accordance with the elaborated criteria.

LISTA TABELELOR

Tabelul 1.1. Incidența, prevalența și mortalitatea prin CE la 100 mii populație (GLOBOCAN, 2020).....	31
Tabelul 2.1. Stadializare TNM, revizuirea FIGO 2009.....	65
Tabelul 2.2. Grupuri de risc pentru afectarea ganglionilor limfatici și metastaze la distanță (consens ESGO, ESMO, ESTRO, 2016).....	67
Tabelul 2.3. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și vârstă	68
Tabelul 2.4. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în diferite perioade de vârstă în funcție de grupul de risc	69
Tabelul 2.5. Corelarea stadiului bolii, tipului histologic și gradului de diferențiere a tumorilor la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	70
Tabelul 2.6. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc scăzut	72
Tabelul 2.7. Repartizarea pacientelor cu CE din grupul de risc scăzut în funcție de prezența bolilor organelor sistemului reproductiv	72
Tabelul 2.8. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc intermediar.....	73
Tabelul 2.9. Repartizarea pacientelor cu EC din grupul de risc moderat în funcție de prezența bolilor sistemului reproductiv.....	74
Tabelul 2.10. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc intermediar-crescut	75
Tabelul 2.11. Repartizarea pacientelor cu CE din grupul de risc intermediar-crescut în funcție de prezența bolilor organelor sistemului reproductiv	76
Tabelul 2.12. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc crescut.....	77
Tabelul 2.13. Repartizarea pacientelor cu EC din grupul de risc crescut în funcție de prezența bolilor organelor sistemului reproductiv	78
Tabelul 2.14. Tipul de primeri utilizați și succesivitatea nucleotidică a acestora	84
Tabelul 3.1. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu vârstă.....	91
Tabelul 3.2. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu indicatorii de greutate	92
Tabelul 3.3. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu indicii de masă corporală	92
Tabelul 3.4. Dependența CE de prezența tumorilor maligne la rudele pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	93
Tabelul 3.5. Localizarea tumorilor maligne la rudele de gradul I ale pacientelor cu CE în stadiul I-II în funcție de grupul de risc	93
Tabelul 3.6. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu caracterul ciclului menstrual.....	95

Tabelul 3.7. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu numărul de nașteri.....	96
Tabelul 3.8. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu caracteristici ale funcției	96
Tabelul 3.9. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența infertilității	96
Tabelul 3.10. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu numărul de avorturi.....	97
Tabelul 3.11. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența patologiilor organelor sistemului reproductiv	98
Tabelul 3.12. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de dimensiunea tumorii primare.....	103
Tabelul 3.13. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu dimensiunile uterului	105
Tabelul 3.14. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de forma morfologică ..	105
Tabelul 3.15. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu forma morfologică	107
Tabelul 3.16. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu gradul de diferențiere tumorală.....	109
Tabelul 3.17. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de profunzimea invaziei tumorale.....	110
Tabelul 3.18. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența invaziei limfovaskulare în miometru.....	111
Tabelul 3.19. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența focarelor de necroză	111
Tabelul 3.20. Repartizarea valorilor leucocitelor la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	113
Tabelul 3.21. Repartizarea valorilor limfocitelor la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	113
Tabelul 3.22. Repartizarea valorilor trombocitelor la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	114
Tabelul 3.23. Rezultatele analizei markerilor clinici ai inflamației la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	115
Tabelul 4.1. Relațiile de corelație și coeficienții de corelație Spearman între expresia Ki-67 și caracteristicile funcțiilor menstruale și reproductivă la pacientele cu CE.....	118
Tabelul 4.2. Dependența expresiei indicelui Ki-67 de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc.....	120
Tabelul 4.3. Dependența expresiei indicelui Ki-67 de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc.....	121
Tabelul 4.4. Dependența expresiei indicelui Ki-67 de stadiul bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	121

Tabelul 4.5. Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i> la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	123
Tabelul 4.6. Frecvența tumorilor <i>PTEN</i> -pozitive la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de variantă patogenetică	123
Tabelul 4.7. Frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i> în funcție de vârsta pacientelor	124
Tabelul 4.8. Frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i> la pacientele cu CE în funcție de stadiul bolii	124
Tabelul 4.9. Dependența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i> de gradul de diferențiere la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	125
Tabelul 4.10. Dependența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i> de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc	126
Tabelul 4.11. Repartizarea pacientelor cu CE în funcție de vârstă și prezența epimutației <i>MLH1</i>	127
Tabelul 4.12. Dependența <i>MLH1</i> de stadiul bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II	127
Tabelul 4.13. Dependența prezenței epimutației <i>MLH1</i> de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc.....	128
Tabelul 4.14 Dependența prezenței epimutației <i>MLH1</i> de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc.....	128
Tabelul 5.1. Supraviețuirea generală a pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și vârstă	134
Tabelul 5.2. Supraviețuirea generală a pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	134
Tabelul 5.3. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani a pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	135
Tabelul 5.4. Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani a pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și vârstă	135
Tabelul 5.5. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de frecvența recidivelor și metastazelor (abs.)	136
Tabelul 5.6. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și localizarea recidivelor și metastazelor (abs.).....	136
Tabelul 5.7. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II de progresie în funcție de grupul de risc și profunzimea invaziei tumorale în miometru (abs.)	138
Tabelul 5.8. Repartizarea pacientelor cu progresie a CE în stadiile I-II a diferitelor grupuri de risc în funcție de gradul de diferențiere tumorală.....	138
Tabelul 6.1. Factorii de risc decisivi incluși în model pentru a evalua prognosticul evoluției bolii la pacientele cu CE în stadiile I și II	148

LISTA FIGURELOR

Fig. 1.1. Clasificarea patogenică a CE – modelul dualist.....	35
Fig. 1.2. Modificările genetice specifice pentru fiecare dintre cele două tipuri de tumori.....	36
Fig. 1.3. Clasificarea moleculară a cancerului endometrial (<i>Cancer Genome Atlas</i>)	40
Fig. 1.4. Profilul mutațional al tumorilor endometrioide cu stabilitatea microsatelitică și instabilitatea microsatelitică	45
Fig. 1.5. Tipul variantelor genetice și clasele de SNV	46
Fig. 1.6. Afectarea căilor de semnalizare	47
Fig. 1.7. Valoarea indicelui TMB (încărcătura mutațională a tumorii) în cohortele studiate	47
Fig. 1.8. Proteină trans-membrană PD și răspunsul imun	49
Fig. 1.9. Frecvența mutațiilor <i>PTEN</i> în setul de date genomice Endometrial Cancer	53
Fig. 1.10. Rolul mutațiilor <i>PTEN</i> în calea de semnalizare P3K-PKB/AKT (fosfoinozitol-3 kinază/serin-treonină protein kinază/cale de semnalizare AKT).....	54
Fig. 2.1. Vârsta pacienților incluse în studiu în funcție de grupul de risc, ani.....	64
Fig. 2.2. Schema generală a proiectului de cercetare	66
Fig. 2.3. Primerii și probele utilizate pentru identificarea specifică a mutației <i>PTEN:c.389G>A</i> prin metoda castPCR	82
Fig. 2.4. Fluxul de lucru pentru castPCR	83
Fig. 2.5. Fluxul de lucru pentru reacția de polimerizare în lanț specifică metilării.....	85
Fig. 2.6. Nivelul hemoglobinei în funcție de grupul de risc, g/l.....	86
Fig. 2.7. Nivelul leucocitelor în funcție de grupul de risc, x 10 ⁹ /ml	86
Fig. 2.8. Nivelul VSH în funcție de grupul de risc, ml/oră	87
Fig. 2.9. Nivelul de trombocite în funcție de grupul de risc, 10 ⁹ /ml	87
Fig. 2.10. Nivelul de limfocite în funcție de grupul de risc, 10 ⁹ /ml	88
Fig. 3.1. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc	102
Fig. 3.2. Repartizarea pacienților cu CE în stadiul II în funcție de invazia în canalul cervical..	103
Fig. 3.3. Repartizarea pacienților cu cancer endometrial minim în funcție de grupul de risc	104
Fig. 3.4. Carcinom endometrial de tip seros, HE, ob x 10	106
Fig. 3.5. Carcinom endometrial secretor cu infiltrare cu celule spumoase, HE, ob x 4.....	107
Fig. 3.6. Repartizarea pacienților de risc crescut în funcție de profunzimea invaziei în stroma cervicală.....	110
Fig. 4.1 Adenocarcinom endometrial moderat diferențiat, expresia imunohistochimică a indexului Ki-67, ob x 10.....	119
Fig. 4.2 Adenocarcinom endometrial slab diferențiat, expresia imunohistochimică a indexului Ki-67, ob x 10.....	120
Fig. 5.1. Supraviețuirea generală la trei ani a pacienților cu cancer endometrial în stadiile I-II	133

Fig. 5.2. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani la pacientele cu CE în stadiile I-II, în funcție de expresia indicelui de proliferare Ki-67	140
Fig. 5.3. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani la pacientele cu în funcție de portajul epimutației promotorului <i>MLH1</i>	141
Fig. 5.4. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani la pacientele cu CE în stadiile I-II purtătoare ale mutației <i>PTEN</i>	142

LISTA ABREVIERILOR

CCD IMSP IO - Centrul Consultativ Diagnostic al IMSP Institutului Oncologic
CCNPE – cancer colorectal nonpolipozic ereditar
CCR – cancer colorectal
CCU - cancer de corp uterin
CE – cancer endometrial
CGM – cancer al glandei mamare
CM – cancer mamar
CO – cancer ovarian
COGF – cancer al organelor genitale feminine
DZ – diabetul zaharat
ESGO – European Society of Gynaecological Oncology (Societate Europeană a Oncoginecologilor)
ESMO – European Society for Medical Oncology (Societate Europeană a Oncologilor Medicali)
ESTRO – European Society for Radiotherapy & Oncology (Societate Europeană a Radioterapeuților și Oncologilor)
FIGO - Federația Internațională a Obstetricienilor și Ginecologilor
Gy - Gray
IDF - Federația Internațională pentru Diabet
IM - instabilitate microsatelitică
IMSP IO – Instituția Medico-Sanitară Publică Institutul Oncologic
INL - indicele neutrofile/limfocite
ITL - indicele trombocito-limfocitar
IÎ – interval de încredere
gg/l – ganglioni limfatici
MS – stabilitatea microsatelitică
MSI –instabilitatea microsatelitică
MSMPS – Ministerul Sănătății, Muncii și Protecției Sociale
OMS - Organizația Mondială a Sănătății
PTEN - omolog de fosfatază și tensină
RMN – rezonanță magnetică nucleară
RTE – radioterapie externă
RTIC – radioterapie intracavitară

RTOG – Radiation Therapy Oncology Group (Grupul Oncologic al Radioterapeuților)

SFR – supraviețuire fără recidivare

SG – supraviețuire generală

SM – sindrom metabolic

SOP – sindromul ovarelor polichistice

TC – tomografie computerizată

USG – ultrasonografie

INTRODUCERE

Actualitatea temei și importanța problemei abordate.

Actualitatea temei este condiționată de nivelul înalt al morbidității prin cancer endometrial (CE), constituind o problemă majoră cu impact global în sănătatea publică. Cancerul endometrial reprezintă 4,8% dintre cazurile de tumori maligne și se situează, la nivel mondial, pe locul 6 în structura incidenței tumorilor maligne la femei [81, 134, 186].

În ceea ce privește creșterea ratei morbidității, CE ocupă constant locul 7 printre neoplazmele maligne la femei [20]. Creșterea constantă a incidenței CE se explică prin creșterea speranței medii de viață („îmbătrânirii”) în rândul populației și a nivelului de obezitate [65]. Incidența acestei patologii este în continuă creștere nu doar în rândul pacienților cu vârstă înaintată, ci și în rândul tinerelor.

Conform datelor Registrului National 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 [156]. Peste 77,0% dintre cazuri sunt diagnosticate în stadiile incipiente (stadiile I și II), cu o rată înaltă de supraviețuire la 5 ani [156].

Ca urmare a unei analize detaliate, putem observa că rezultatele supraviețuirii la 5 ani variază în limitele stadiului I și constituie în stadiul IA - 91-95%, iar în stadiul IB - 80-65% [13]. Supraviețuirea la 5 ani în stadiul II a constituit 50,6% [71]. Incidența cancerului endometrial între 40 și 54 de ani crește brusc, cu un vârf la vârsta de 60-64 de ani. În grupurile de vârstă de 40-49 și 50-56 de ani, există o creștere semnificativă a incidenței.

Astfel, cancerul endometrial este observat în principal la femeile din grupul de vârstă mai înaintată. Incidența acestei patologii este în continuă creștere și nu numai în rândul pacienților din grupul de vârstă mai înaintată, ci și în rândul tinerilor. Astfel, proporția pacienților 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 pacienților cu cancer endometrial sub 45 de ani va crește cu 37%.

Rata de supraviețuire la cinci ani a pacienților 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 pacientele cu tumori înalt diferențiate la 42% la pacientele cu tumori slab diferențiate [31, 34].

Un studiu recent, care reprezintă o analiză integrativă a genomului în cazul a 373 de tumori endometriale, realizat de o echipă de cercetători de la Universitatea Washington (St. Louis, 2013) în cadrul proiectului *Cancer Genome Atlas (TCGA)*, a relevat că aproximativ 1/4 dintre tumori sunt clasificate ca fiind endometrioide, cu grad scăzut de diferențiere, cu fenotip molecular, similar carcinoamelor seroase ale corpului uterin, inclusiv mutații *TP53* și anomalii ale numărului copiilor genelor somatice [11]. Din acest considerent, au fost evidențiate 4 subgrupuri noi de neoplazie endometrială, în dependență de spectrul modificărilor genetice și moleculare. În cadrul unui studiu multicentric, Y. Hussein et al. [12] au analizat parametrii morfologici și clinico-patologici a 17 tumori din subgrupul TCGA „ultramutant”, precum și o cohortă formată din 8 astfel de tumori, care au fost studiate la Universitatea din Calgary (Canada) [12].

În pofida unui număr mare de cercetări realizate atât de autorii autohtoni, cât și de cei străini, axate pe studiul aspectelor biologice moleculare ale cancerului endometrial, în prezent, niciunul dintre markerii tumorali nu este recomandat pentru o utilizare clinică la scară largă în cazul cancerului de corp uterin, deoarece nu există suficiente informații pentru introducerea acestora în practica clinică.

Conform recomandărilor actuale ale ESMO, pentru managementul pacientelor cu tumori endometriale, tactica de tratament este determinată de rezultatele stratificării riscului [17, 18, 19].

În ceea ce privește cancerul de CU, sunt descriși un număr mare de factori de prognostic, fapt care creează anumite dificultăți în aplicarea acestora în practica clinică. Majoritatea factorilor sunt morfologici, iar informațiile despre aceștia sunt obținute în baza unui examen histologic standard. Datele respective sunt utilizate pentru a evalua riscul metastazelor în ganglionii limfatici, pentru a face prognoze în legătură cu evoluția bolii și viața pacientelor și pentru a planifica tratamentul postoperatoriu [202-206]. Studiul factorilor clinici, dar și a celor morfologici de prognostic în cadrul anumitor stadii, în special în cele timpurii, au fost deja realizate de către alți autori [16, 40]. Totuși, publicațiile axate pe analiza unei game largi de factori clinici și morfologici, precum și markeri tumorali, se întâlnesc rar.

Un interes deosebit îl prezintă studiul factorilor de risc în cazul unor variante individuale de evoluție a CE. Astfel de lucrări au fost deja publicate [24, 26, 34, 82, 83]. Însă, există puține exemple de utilizare a acestor date în practică [3, 4, 188].

Tratamentul cancerului de CE, în special în stadiul I, care reprezintă 70-75% dintre paciente, rămâne a fi un subiect de dezbatere. [29,61,75].

Acest lucru este valabil și pentru efectuarea limfadenectomiei și radioterapiei adjuvante (RT). În ultimii 30 de ani, nu au încetat dezbaterile privind evaluarea stării ganglionilor limfatici regionali în stadiul clinic I de CE. Acest lucru se explică prin faptul că după ce a fost propusă

clasificarea stadiilor chirurgicale ale CE în 1988, Federația Internațională a Obstetricienilor și Ginecologilor (FIGO) nu a determinat ce manipulări sunt necesare în acest scop. Aceasta ar fi una dintre cele mai importante probleme în domeniul oncoginecologiei moderne, care se caracterizează printr-o stratificare a opiniilor specialiștilor: de la negarea totală a necesității limfadenectomiei până la efectuarea limfadenectomiei pelviene și lombare, practic, în cazul tuturor pacientelor.

La stabilirea grupului de risc, se ia 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 [44]. Volumul intervenției chirurgicale și terapia postoperatorie sunt stabilite în funcție de situația clinică. Astfel, determinarea corectă a gradului de diferențiere și a tipului de tumoare reprezintă un aspect fundamental în elaborarea unui plan individual de tratament.

Totuși, conform unui studiu realizat de TCGA (2013), 1/4 dintre tumorile clasificate drept carcinoame endometriale G3, corespund, după profilul molecular, unui subgrup de tumori de tipul celor seroase [23]. În același timp, un alt grup de cercetători condus de M. McConechy et al. [143] a analizat 3 cazuri de tumori, definite histologic drept seroase, care au suferit mutații *PTEN* și *ARID1A* în absența mutațiilor *TP53*. La reevaluarea histopatologică, toate cele 3 tumori au fost identificate ca fiind mixte. În plus, a fost efectuată o analiză imunohistochimică, care a contestat existența unui profil seros al tumorilor în legătură cu expresia normală *p53* și în absența expresiei *p16*. De asemenea, la una dintre tumori a fost identificată expresia receptorilor la estrogen și progesteron [56]. Potrivit cercetătorilor, acest fapt sugerează că clasificarea cancerului endometrial nu mai poate reieși dintr-un model dualist.

În special, tumorile cu grad scăzut de diferențiere au o eterogenitate pronunțată, care nu este reflectată în clasificarea acceptată, în timp ce profilul mutației tumorilor cu grad înalt de diferențiere și seroase variază semnificativ.

Majoritatea tumorilor seroase prezintă mutații la nivelul genei *TP53*; 1/3 din tumorile „ultramutante”, de asemenea, le pot avea, totuși, prognosticul clinic este diferit. Prin urmare, atunci când se utilizează analiza imunohistochimică pentru a confirma diagnosticul de carcinom seros, determinarea *p53* și panelul auxiliar de parametri imunohistochimici, cum ar fi *PTEN* și *ARID1A*, pot fi utilizate pentru diferențierea carcinomului seros de tumoarea endometrioidă cu mutația genei *POLE* [57,190].

În perspectivă, clasificarea moleculară a tumorilor endometriale poate deveni un element indispensabil al clasificării histopatologice, care ar contribui la determinarea prognosticului bolii și a tacticii de tratament, la dezvoltarea unei noi terapii țintite, precum și la introducerea testelor de diagnosticare moleculară pentru depistarea cancerului endometrial în stadiile precoce, când

prognosticul este mult mai favorabil.

În pofida numărului mare de cercetări realizate atât de către autorii autohtoni, cât și de cei străini, care s-au axat pe studiul aspectelor biologice și moleculare ale cancerului endometrial, în prezent niciunul dintre markerii tumorali nu sunt recomandați pentru o utilizare clinică pe scară largă în cancerul de corp uterin, deoarece nu există suficiente informații pentru introducerea acestora în practica clinică. Prin urmare, problema privind criteriile de prognostic în cazul cancerului endometrial rămâne a fi neabordată [19]. Ca urmare a analizării grupurilor de risc, este necesar de a stabili un model propriu de prognostic, extins datorită integrării unor caracteristici clinice și morfologice suplimentare ale tumorii.

Scopul studiului: determinarea factorilor de prognostic al cancerului endometrial în stadiile I-II pentru elaborarea modelului matematic de prognostic.

Obiectivele lucrării:

1. Stabilirea criteriilor clinice, morfologice, imunohistochimice ca factori de prognostic ai CE;
2. Estimarea corelației datelor molecular-genetice în funcție de caracteristicile clinice și morfologice ale CE;
3. Studiarea particularităților imunohistochimice și estimarea profilului molecular al tumorii la paciențele din lotul de studiu;
4. Analiza multifactorială al complexului criteriilor de prognostic stabilite cu determinarea valorii de prognostic pentru fiecare factor aparte la paciențele cu CE în stadiile I-II;
5. Crearea modelului matematic al evaluării complexe de prognostic al CE în stadiile I-II în funcție de grupurile de risc și de factorii de prognostic.

Noutatea și originalitatea științifică

Pentru prima dată a fost cercetată interfața biomarkerilor evenimentelor fiziopatologice principale ce se referă la declanșarea și evoluția cancerului endometrial în stadiul I și II. S-a estimat rolul echilibrului între procesele extreme iminente CE, cum ar fi apoptoza celulară și proliferarea celulară în contiguitate cu angiogeneza tumorii pentru a consolida markeri cu valoare predictivă asupra prognosticului patologiei.

Problema științifică soluționată în teză

Problema științifică soluționată în teză constă în faptul, că cercetarea bazată pe studii clinico-morfologice și molecular-genetice a decelat mecanisme patogenetice inedite și predictorii ai exacerbarii CE, cum ar fi prezența epimutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*, metilării promotorului genei *MLH1*, markerului de proliferare Ki-67, creșterea indicelui neutrofile/limfocite, fapt ce a permis elaborarea unui model matematic pentru prezicerea evoluției

bolii la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc.

Semnificația teoretică a lucrării

Prin dovezile concludente obținute este completat conceptul și suportul teoretic al cancerului endometrial. La această noimă este importantă decantarea aportului mutației c.389G>A a genei *PTEN*, creșterii activității proliferative a ciclului mitotic evaluată prin intermediul creșterii antigenului Ki-67, mutației genei *p53* rezultante în deprecierea raportului *Bax/Bcl2*. Totodată, este evidențiat rolul inflamației în promovarea CE, iar majorarea indicelui neutrofile/limfocite este nu numai un mecanism patogenetic, dar și un predictor fezabil al prognosticului tumorii. Este conceptual importantă legătura notabilă a CE cu creșterea masei corporale, precum și absența legăturii între CE vizavi de riscul recurenței pe o parte și caracteristicile menstruației, numărului de nașteri și avorturi spontane pe de altă parte. Valoare predictivă asupra creșterii riscului de recurențe la pacientele cu CE este atribuită unor factori inerenți patologiei organelor reproductive, cum ar fi chistul ovarian, miomul uterin, eroziunea de col uterin și mastopatia fibrochistică. Rata adenocarcinomul papilar seros în lotul pacientelor cu CE cu stadiul II este în medie cu 44-48% mai mare comparativ cu indicele stadiului IA și IB. Gradul diferențierii tumorale are impact concludent asupra riscului recurenței, astfel că gradul scăzut de diferențiere se estimează în 95% la pacientele de risc crescut, iar gradul înalt de diferențiere este caracteristic riscului scăzut (80%). Remarcabil, că profunzimea invaziei tumorii nu corelează autentic cu creșterea riscului. Prezența focarelor necrotice este un predictor veritabil al riscului crescut. Impactul inflamației se impune prin valori maxime ale raportului neutrofile/limfocite și raportului trombocite/limfocite la pacientele cu CE de risc crescut. Markerul proliferației Ki-67 este în raport direct cu gradul de risc, precum și cu stadiul bolii (nivelul expresiei Ki-67>49% este decelat numai în grupul de risc crescut). Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* este în grupul de risc crescut de 4-8 ori mai mare comparativ cu grupurile de risc intermediar și intermediar-crescut. Important este prezența acestei mutației numai la pacientele cu paternul hormon-dependent al tumorii în proporție de 36%, dar stadiul II al bolii se impune prin reducerea ratei mutației genei *PTEN* versus stadiul I. Epimutația *MLH1* nu demonstrează o legătură atât de concludentă cu evoluția CE comparativ cu mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*.

Valoarea aplicativă a lucrării

Pe un material clinic probatoriu vast a fost apreciată semnificația clinică a expresiei markerilor biologici moleculari care caracterizează apoptoza, proliferarea celulară și angiogeneza în țesutul tumoral la pacientele cu CE în stadiul I și II. Au fost determinate criteriile clinice, morfologice, imunohistochimice, și genetice precise de diagnostic și prognostic al CE la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II. Au fost evidențiate caracteristicile imunohistochimice ale

CE (expresia Ki-67), prezența mutației c.389G>A a genei *PTEN*, identificarea metilării promotorului genei *MLH1* și corelația în funcție de caracteristicile clinico-morfologice ale cancerului endometrial la pacientele din lotul de studiu cu elaborarea profilului molecular al tumorii pentru fiecare pacient. Această abordare permite de a efectua o analiză detaliată a valorii de prognostic pentru fiecare factor aparte, ce va permite identificarea celor mai principali factori de prognostic. A fost elaborat un model propriu de prognostic, care include caracteristici clinice, morfologice, imunologice, imunohistochimice și genetice ale cancerului endometrial. Supraviețuirea pacientelor cu CE pe o perioadă de supraveghere de 3 ani este minimală (72,2%) în rândul celor cu vârsta mai mare de 60 de ani și care fac parte din grupul de risc crescut al recurenței. Rata de supraviețuire fără recidive la aceste paciente este, de asemenea, minimală (44%). Totodată, rata metastazelor la pacientele cu CE nu corelează inteligibil cu stadiul bolii. Timpul mediu de progresie a CE este în raport indirect cu valoarea raportului neutrofile/limfocite, acesta fiind minimal (6 luni: de la 5 până la 9 luni) la pacientele de risc crescut de recurență ce au valoarea INL>5,0. Markerul Ki-67 are valoare predictivă certă asupra ratei de supraviețuire și de recidivă la pacientele cu CE, astfel, că activitatea proliferativă sporită (>49%) are impact negativ la distanța de 3 ani. Prezența epimutației *MLH1*, de asemenea, influențează recidiva bolii la pacientele cu CE la distanța de 3 ani, dată fiind valoarea minimală a timpului mediu până la progresare de 10,5 ani atestat la purtătoarele acestei mutații din grupul de risc crescut.

Rezultatele științifice obținute pe durata efectuării studiului au fost prezentate, discutate și publicate în cadrul forurilor științifice naționale și internaționale:

A XXIV-a ediție a Expoziției Internaționale Specializate „MoldMEDIZIN & MoldDENT” Activități integrate în cadrul Programului național de control al cancerului în R. Moldova și rolul imunogeneticii în diagnosticul și tratamentul maladiilor oncologice (Chișinău, 2018);

Al XIII-lea Congres al oncologilor și radiologilor din țările CSI și Euroasia (Kazani, Rusia, 2020);

Al XXI-lea Congres European al Oncoginecologilor (Atena, Grecia 2020);

Congresul Oncologilor din Republica Moldova cu participare internațională, ediția V, Prevenirea și Controlul cancerului – o continua provocare (Chișinău 2020);

Al XIV-lea Congres al oncologilor și radiologilor din țările CSI și Euroasia (Moscova, Rusia, 2021);

Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu” cu participare internațională (Chișinău, 2021);

COST Action: Gynocare Conference (Valletta, Malta 2022);

Al XXIII-lea Congres European al Oncoginecologilor (Berlin, Germania 2022).

Training School in Rare Gynaecological Tumours (Skopje, Macedonia 2022);

Training School in Rare Gynaecological Cancers „Bringing the gap between research and cure in gynaecological cancers” (Napoli, Italia, 2023).

Publicații la tema tezei: de către autor au fost publicate 55 de lucrări științifice.

Sumarul compartimentelor tezei

Teza este scrisă în limba română și cuprinde: adnotările în limbile română, rusă și engleză, lista abrevierilor, declarația privind asumarea răspunderii, introducere, 6 capitole, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie, anexe, model matematic pentru prezicerea evoluției bolii la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc, CV-ul autorului.

Capitolul 1. Sunt expuse reperele principale ce caracterizează epidemiologia cancerului endometrial în Moldova și diferite țări europene. Este decelată valoarea patogenetică vizavi de CE a diferitor factori de risc, cum ar fi sindromul metabolic, dereglarea profilului lipidic, hiperglicemia, inflamația, obezitatea, etc. Este expus apanajul fiziopatologic modern ce vizează declanșarea și evoluția CE, inclusiv la conotația modificărilor genetice cu putere de activare a procesului de proliferare pe fondalul deprecierii mecanismelor de apoptoză, așa ca mutațiile genei *PTEN* în detrimentul exercițiului de blocare a ciclului celular și a controlului raportului proteinelor cu efect pro-/anti-apoptotic Bax/Bcl2, mutațiile supresorului tumoral *p53*, precum și reducerea expresiei E-caderinei, fapt ce facilitează creșterea și diseminarea tumorii. Este adus la apel panoul multimarker util în diferențierea histologică a CE și în estimarea agresivității tumorii, catalogată în 4 paterne de neoplazie endometrială în dependență de spectrul modificărilor genetice și moleculare: tumori ultramutante, hipermutante, cu număr mare de copii și tumori cu număr redus de copii. Rolul ligandului PD/L de pe suprafața celulei tumorale este analizat în context cu relatarea markerilor proliferării celulare, antigenul Ki-67 și a antigenului nuclear celular proliferant (PCNA). Mutațiile genei *p53* sunt evidențiate drept o condiție de inhibiție a apoptozei prin creșterea expresiei factorului antiapoptotic Bcl2, iar mutația genei supresor *PTEN* este vizată predilect ca paternul c.389G>A în care guanina din poziția 389 este substituită cu adenină. De asemenea, este subliniat aportul patogenetic, diagnostic și prognostic al markerilor angiogenezei, iar creșterea expresiei COX2 în asociere cu elevarea markerilor proinflamatori se impune ca factor patogenetic și predictor veritabil al cancerului endometrial.

Capitolul 2. Material și metode de cercetare. Conține reperele principale de jalonare și etapizare a studiului (retrospectiv și prospectiv) realizat pe 269 paciente cu CE în stadiile I și II apreciate în examenul histologic, precum și metodele de cercetarea utilizate pentru rezolvarea obiectivelor trasate: clinice, histopatologice, imunohistochimice, genetice, de laborator, ultrasonografia organelor abdominale și a pelvisului, roentgenografia cutiei toracice, iar la indicații

și scintigrafia osoasă. Designul studiului include descrierea primei etape a studiului, marcată prin evaluarea particularităților clinico-morfologice (localizarea, dimensiunea tumorii, forma creșterii, invazia, particularitățile statutului imun) și etapei a doua marcată prin cercetarea particularităților histochemice și genetice: determinarea markerului Ki-67, mutației c.389G>A a genei *PTEN*, hipermetilarea genei *MLH1* cu determinarea profilului molecular și subtipului molecular al tumorii. Potrivit recomandărilor modificate ale ESGO lotul general al pacientelor a fost divizat în 4 grupuri vizavi de riscul recurenței: scăzut, intermediar, intermediar-crescut și crescut. Aceste 4 grupuri sunt de asemenea jalonate în dependență de vârstă și activitatea reproductivă, stadiul bolii, subtipul histopatologic și gradul de diferențiere tumorală. Totodată, fiecare grup este detaliat analizat sub aspectul vârstei, duratei ciclului menstrual și a postmenopauzei, numărul de sarcini și avorturi, vechimii bolii. Pe de altă parte, grupurile au fost supuse exegezei în funcție de maladiile organelor sistemului reproductiv: endometrită cronică, endometrioza, hiperplazie endometrială, chist ovarian, miom uterin, polip cervical etc. Toate metodele de cercetare imunohistochemică, histopatologică, molecular-genetică sunt descrise în asociere cu expunerea utilajului tehnic utilizat. În mod detaliat sunt relatate manevrele procesării statistice a datelor colectate.

Capitolul 3. Analiza caracteristicilor clinice și morfologice ale pacientelor cu cancer endometrial în stadiile I-II. Este demonstrată legătura concludentă dintre CE și creșterea masei corporale, precum și rolul impactului ereditar. De asemenea, este relatată legătura între gradul riscului recurenței al pacientelor cu CE și caracteristicile menstruației, numărul de sarcini și avorturi spontane și vârsta sarcinii. Patologiile reproductive precum chistul ovarian, miomul uterin, eroziunea de col uterin și mastopatia fibrochistică se anunță cu rata semnificativ majorată în subgrupul pacientelor de risc crescut al recurențelor. Drept predictorii morfologici ai prognosticului CE s-a analizat entitatea a 3 criterii ESOG și 5 criterii suplimentare: 1) structura morfologică, 2) localizarea în cavitatea uterină, 3) invazia stromală a cervixului, 4) gradul de diferențiere, 5) adâncimea invaziei tumorale, 6) prezența invaziei limfovaskulare, 7) prezența invaziei perineurale și 8) prezența focarelor de necroză. Este analizată rata distribuirii dimensiunii uterului în cele 4 grupuri de risc, precum și rata diferitor forme morfologice ale tumorii în loturile pacientului cu stadiul IA, IB și III. Mai mult, în cele 4 grupuri de risc se demonstrează rata diferențierii morfologice a tumorii, precum și profunzimea ei de invazie, precum și prezența invaziei limfovaskulare în miometru și a focarelor necrotice. O componentă importantă a capitolului 3 este dedicată expunerii caracterului modificării leucocitelor și trombocitelor la pacientele cu CE în funcție de grupul de risc, precum și raporturile neutrofile/limfocite și trombocite/limfocite.

Capitolul 4. Factorii molecular-genetici în prognosticul cancerului endometrial. Este

expusă valoarea markerului activității proliferative, Ki-67, la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II, precum și corelația acestui marker cu vârsta, numărul de sarcini, începutul și durata ciclului menstrual. Este demonstrată dependența expresiei indicelui Ki-67 de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc, precum și legătura markerului cu stadiul CE și gradul de infiltrație a tumorii. Rata prezenței mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* este arătată în toate cele 4 grupuri de risc de recurență al pacientelor cu CE. Rata prezenței mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* este, de asemenea, analizată în dependență de varianta patologică a tumorii: hormon-dependentă sau autonomă, precum și în funcție de vârstă și stadiul bolii. În plus, rata mutației genei *PTEN* este notată în funcție de riscul recurenței, precum și de gradul de infiltrație a tumorii <50% sau >50%. Rezultatele testării genetice moleculare (PCR) pentru a determina epimutația *MLH1* la 50 de femei cu CE sunt expuse prin rata de prezență și absență a mutației în raport cu vârsta, stadiul bolii și clasamentul riscului, precum și gradul de invazie a tumorii. Se finalizează acest capitol prin demonstrarea a 2 cazuri clinice.

Capitolul 5. Semnificația factorilor clinico-morfologici și molecular-genetici de prognostic la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II. În acest capitol sunt analizate rezultatele studiului prospectiv privind prognoza evoluției CE pe o perioadă de 3 ani la conotația supraviețuirii pacientelor în baza criteriilor: pacienta este în viață, pacienta a decedat din cauza bolii de bază, pacienta este în viață cu recidive și/sau metastaze la distanță, pacienta a renunțat la observație sau pacienta a decedat din alt motiv. Curba de supraviețuire este construită în toate cele 4 subgrupuri privind riscul recurenței, iar datele sunt inclusive arătate și în dependență de vârsta pacientelor. De asemenea, este relatat și impactul riscului de recurență asupra ratei de supraviețuire fără recidivare a pacientelor cu CE pe perioada de 3 ani, rata metastazelor în raport cu stadiul bolii, precum și localizarea organică a acestora. Rata recidivelor și a metastazelor a pacientelor cu CE este decelată și în dependență de gradul de diferențiere a tumorii, profunzimea invaziei ei în miometru, precum și de valoarea raportului neutrofile/limfocite și raportului trombocite/limfocite. Evaluarea supraviețuirii la distanță de 3 ani la pacientele cu CE în stadiile I-II este prezentată și în funcție de expresia factorului de proliferare Ki-67, precum și de prezența epimutației *MLH1*. Este analizat impactul epimutației *MLH1* asupra recidivei bolii la pacientele cu CE care au supraviețuit pe perioada de supraveghere de 3 ani în funcție de riscul recurenței și al stadiului bolii.

Capitolul 6. Prognosticul evoluției cancerului endometrial. Sunt expuse rezultatele analizei multivariate (software-ul IBM SPSS Statistics 26) privind estimarea valorii prognostice a parametrilor clinico-morfologici și molecular-genetici vizavi de supraviețuirea globală și fără recidivare la distanță de 3 ani a celor 269 de paciente cu CE în stadiile I-II incluse în studiu. Indicii

utilizați în acest context sunt: vârsta, IMC, stadiul bolii, gradul de diferențiere a tumorii, subtipul histologic al tumorii, profunzimea invaziei în miometru și canalul cervical, prezența infiltrației perilimfovasculare, prezența infiltrației perineurale, prezența focarelor de necroză, nivelul de expresie Ki-67, prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* și hipermetilării promotorului *MLH1*. Este trecut în evidență faptul că stadiul bolii este un factor semnificativ statistic în supraviețuirea globală la distanța de 3 ani a pacientelor cu CE, iar astfel de indici precum gradul de diferențiere și nivelul markerului Ki-67 sunt predictorii statistic semnificativi ai supraviețuirii fără recidivare la aceeași perioadă de supraveghere. De asemenea, sunt relatate rezultatele analizei discriminante de cluster menită să evidențieze dintr-un grup de 14 indici factori clinici, morfologici, și genetici cu valoare predictivă asupra diagnosticului și prognosticului la distanță a pacientelor cu CE în stadiile I-II. Aplicarea modelului matematic de evidențiere a algoritmului de predictorii s-a realizat în contextul a 2 loturi de paciente: (1) cu prognostic favorabil și (2) nefavorabil privind supraviețuirea fără recidivare la distanța post-operatorie de 3 ani. Acest capitol se finalizează cu demonstrarea a 3 cazuri clinice în care din cei 14 indici s-au apreciat predictorii veritabili ai supraviețuirii fără recidivare, cum ar fi prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* și a mutației epigenice *MLH1*, nivelul de expresie a markerului de proliferare Ki-67 în tumoră >49%, precum și creșterea raportului neutrofile/limfocite. Revendicările respective sunt importante în vederea abordării și decelării prognosticului individual.

Sinteza rezultatelor obținute. Reprezintă o exegeză comprehensivă a materialului probatoriu obținut în cadrul cercetărilor clinice, morfologice, imunohistochimice și molecular-genetice la pacientele cu CE în stadiile I-II. Sunt evidențiate cele mai remarcabile inerențe ce asociază în plan fiziopatologic și clinic evoluția cancerului endometrial, cum ar fi markerul de proliferare Ki-67, paternul mutațional c.389G>A al genei *PTEN*, hipermetilarea promotorului *MLH1*, indicii INL și ITL, vârstă, vechimea bolii, gradul de diferențiere a tumorii și gradul ei de invazie, etc. Analiza postulativă a rezultatelor obținute este realizată în contiguitate cu confruntarea datelor din literatură de specialitate și expunerea aspectelor apocrife ale problemei abordate. Calota finală a sintezei materialului cercetării este consolidată prin algoritmul de predictor de prognoză a supraviețuirii pacientelor cu CE fără recidivă la distanța de 3 ani în baza modelului matematic de analiză discriminantă de cluster a 14 indicatori.

1. ASPECTELE MOLECULAR-GENETICE ALE CANCERULUI ENDOMETRIAL. O ABORDARE MODERNĂ A PROBLEMEI

1.1. Epidemiologia clinică a cancerului endometrial și a sindromului metabolic

Actualitatea temei este condiționată de nivelul înalt al morbidității prin cancer endometrial (CE), acesta constituind o problemă majoră cu impact global în sănătatea publică. Cancerul endometrial reprezintă 4,8% dintre cazurile de tumori maligne și se situează, la nivel mondial, pe locul 6 în structura incidenței tumorilor maligne la femei [134].

În ceea ce privește creșterea ratei morbidității, CE ocupă constant locul 7 printre neoplasmale maligne la femei [186]. Creșterea constantă a incidenței CE se explică prin creșterea speranței medii de viață („îmbătrânirii”) în rândul populației și a nivelului de obezitate [6; 7; 21; 22; 49; 56; 70; 71]. Incidența acestei patologii este în continuă creștere nu doar în rândul pacienților cu vârstă înaintată, ci și în rândul tinerelor.

Datele cu privire la CE în cadrul Uniunii Europene sau, în general, pentru statele continentului european sunt prezentate în Tabelul 1.1.

Tabelul 1.1. Incidența, prevalența și mortalitatea prin CE la 100 mii populație (GLOBOCAN, 2020)

Populația	Incidența		Prevalența			Mortalitatea	
	Abs.	Rata	1 an	3 ani	5 ani	Abs.	Rata
Europa	130 051	16,6	113 930	312 639	482 952	29 963	7,7
Austria	952	9,9	879	2 412	3 736	250	1,8
Franța	10 982	14,9	9 880	27 304	42 581	2 698	2,3
Germania	12 356	12,7	11 697	32 205	50 030	2 444	1,7
Romania	2 355	12,1	1 953	5 360	8 248	516	2,2
Federația Rusă	28 959	17,9	23 804	64 980	99 568	7 403	3,7

Conform datelor Registrului National 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 [156]. Peste 77,0% dintre cazuri sunt diagnosticate în stadiile incipiente (stadiile I și II), cu o rată înaltă de supraviețuire la 5 ani [158].

Ca urmare a unei analize detaliate, putem observa că rezultatele supraviețuirii la 5 ani variază în limitele stadiului I și constituie în stadiul IA - 91-95%, iar în stadiul IB - 80-65% [13]. Supraviețuirea la 5 ani în stadiul II a constituit 50,6% [71].

Incidența cancerului endometrial la vârsta cuprinsă între 40 și 54 de ani crește brusc, cu un vârf la vârsta de 60-64 de ani. În grupurile de vârstă de 40-49 și 50-56 de ani, există o creștere semnificativă a incidenței.

Astfel, cancerul endometrial este diagnosticat în principal la femeile din grupul 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 37,0%.

Rata de supraviețuire la 5 ani a pacientelor cu cancer endometrial în stadiul I după tratament, conform datelor diferitor autori, scade 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 81,0% la pacientele cu tumori înalt diferențiate până la 42,0% la pacientele cu tumori slab diferențiate [97].

Variabilitatea mare a ratei de supraviețuire a pacientelor cu cancer endometrial, chiar în stadiul I, a contribuit la implementarea unor tactici agresive de tratament, și anume intervenții chirurgicale lărgite. Cu toate acestea, în literatura mondială nu există informații despre o tactică unificată pentru tratamentul cancerului endometrial. Nu există abordări general acceptate pentru alegerea volumului de intervenție chirurgicală la pacientele care, într-un procent mare de cazuri, au o patologie concomitentă agravată, precum și privind alegerea tratamentului adjuvant [23].

Experiența clinică globală acumulată până în prezent face posibilă, pe baza caracteristicilor clinice și morfologice ale tumorii (profunzimea invaziei, tipul histologic, gradul de diferențiere, prezența invaziei limfovaskulare și perineurale), formarea grupurilor de risc scăzut, intermediar, intermediar-crescut și crescut de recidivă a bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II (FIGO, 1988), demonstrând în același timp o scădere a supraviețuirii fără recidive la 5 ani de la 94,2% la 76,0% [158].

Astfel, o creștere a incidenței CE și scăderea supraviețuirii la cinci ani în stadiile incipiente determină necesitatea nu numai în depistarea precoce a acestei patologii, dar a unui tratament adecvat, bazat pe natura molecular-biologică a tumorii, diverși factori clinici și morfologici, precum și pe volumul intervenției chirurgicale.

Definiția și criteriile sindromului metabolic

Cancerul endometrial se caracterizează printr-o natură eterogenă, care se manifestă atât la nivelul factorilor de risc, cât și la nivelul patogeniei. În același timp, elementele endocrine

constituie o parte importantă a tabloului general și interacționează cu un complex de factori molecular-genetici și alți factori, care ar trebui să determine caracteristicile formării grupurilor de risc de recidivă și metastazare a cancerului endometrial.

Unul dintre factorii-cheie de risc pentru cancerul endometrial este considerat a fi un stil de viață inactiv asociat cu excesul de greutate corporală. Incidența cancerului endometrial crește cu 38,0% odată cu lipsa activității fizice regulate. [99]. Patologii concomitente ale sistemului endocrin și cardiovascular, în principal diabetul zaharat și hipertensiunea arterială, sunt factori de risc incontestabili pentru dezvoltarea cancerului endometrial. Hiperinsulinemia cronică se prezintă ca un factor de risc independent [65].

În prezent, toți acești factori sunt uniți în sindromul metabolic, care este strâns implicat în carcinogeneza cancerului endometrial.

Factorii principali, care duc la creșterea incidenței cancerului endometrial sunt considerați a fi nu numai o creștere a duratei de viață a femeilor, o creștere a duratei perioadei reproductive, ci și o creștere semnificativă a frecvenței tulburărilor neuroendocrine și a „bolilor civilizației” cum sunt obezitatea, diabetul zaharat, bolile coronariene, ateroscleroza, hipertensiunea arterială [14].

În prezent, complexul de simptome, care include obezitatea viscerală, afectarea toleranței la glucoză sau diabetul zaharat de tip 2 (DZ2), hipertensiunea arterială și dislipidemia, sunt unite de conceptul de sindrom metabolic (SM).

Țesutul adipos stimulează activ formarea estrogenului extragonadal. În țesutul adipos, androgenii sunt transformați în estrogeni, în principal androstendionă în estronă. La femeile cu masa corporală normală, 1,0% din androstendionă este transformată în estronă, la femeile cu obezitate această cifră este de 10 ori mai mare. La aceste paciente se dezvoltă hiperestrogenismul, în timp ce efectele pe termen lung ale estrogenilor asupra endometrului și deficiența de progesteron contribuie la dezvoltarea proceselor proliferative în endometru (hiperplazie endometrială glandular-chistică, hiperplazie glandulară atipică, cancer endometrial).

Țesutul adipos produce hormonul leptină (un hormon peptidic care reglează metabolismul energetic și are efect anorexigenic). Hiperleptinemia poate avea un efect negativ asupra producției de gonadotropine, în urma căreia maturizarea foliculului dominant în ovare este suprimată și ovulația este blocată, ceea ce la rândul său contribuie la dezvoltarea infertilității și a proceselor hiperplazice ale endometrului.

Disfuncțiile sistemului hipotalamo-hipofizo-ovarian se dezvoltă la pacientele cu creștere a masei țesutului adipos cu 20%. Hiperinsulinemia în SM duce la dezvoltarea sindromului ovarelor polichistice (SOP). Unul dintre efectele acțiunii insulinei este steroidogeneza în ovare și în

glandele suprarenale. De asemenea, dezvoltarea SOP este facilitată de conversia crescută a estrogenilor în androgeni în celulele stromale ale țesutului adipos.

Cancerul endometrial asociat cu SM apare în 82,6% din cazuri. Riscul acestei boli în condiții de SM crește de 2-3 ori.

Prevalența pe scară largă a SM devine o epidemie. Atunci când se utilizează criteriile Organizației Mondiale a Sănătății (OMS, 2005) și ale Asociației Americane de Endocrinologie Clinică (AACE, 2012), prevalența SM în populația feminină a fost de 26,0% și, respectiv, 35,0%, în conformitate cu criteriile Federației Internaționale pentru Diabet (IDF, 2020) - 14,3%.

În aprilie 2005, IDF a identificat criterii stricte pentru diagnosticul sindromului metabolic [108].

Conform recomandărilor IDF, un criteriu obligatoriu pentru SM este obezitatea: circumferință centrală abdominală (talie) mai mare de 94 cm pentru bărbați și mai mult de 80 cm pentru femei, combinată cu cel puțin doi dintre următorii 4 factori:

1. o creștere a trigliceridelor mai mare de 1,7 mmol/l sau tratamentul dislipidemiei;
2. o scădere a lipoproteinelor cu densitate mare mai mică de 1,03 mmol/l la bărbați și mai mică de 1,29 mmol/l la femei sau prin tratament specific;
3. creșterea tensiunii arteriale: sistolică mai mare de 130 mm Hg sau diastolică mai mare de 85 mm Hg sau terapie antihipertensivă;
4. o creștere a glucozei în repaus alimentar de peste 5,6 mmol/l sau a diabetului de tip 2 raportat anterior.

Grupul consens IDF recomandă studiul parametrilor metabolici suplimentari asociați cu sindromul metabolic, inclusiv:

- evaluarea deficienței distribuirii țesutului adipos (repartizarea grăsimii totale, repartizarea grăsimii centrale, biomarkerii țesutului adipos: leptină, adiponectină, conținut de grăsime în ficat); dislipidemie aterogenă (apoproteină B, non-HDL, particule mici de lipoproteine cu densitate mică LDL),
- disglicemie;
- rezistența la insulină (nivel de insulină/proinsulină *a jeune*, HOMA-IR, IR conform modelului minim Bergman, acizi grași liberi crescuți [la post și cu OGTT], volumul M [metoda clamp]);
- tulburări vasculare asociate cu o creștere a tensiunii arteriale (studiu al disfuncției endoteliale, microalbuminurie);
- statut inflamator (nivelul proteinei C- reactive și citokinelor inflamatorii)

1.2. Concepte moderne ale patogeniei cancerului endometrial

Dezvoltarea de idei despre biologia cancerului endometrial

Principala clasificare patogenică a tumorilor maligne de endometru reprezintă modelul dualist elaborat în anii '70 ai secolului trecut.

Bohman Y.V. a catalogat CE în 2 paterne patogenetice, care diferă prin evoluția clinică, patologia concomitentă, subtipul histopatologic, gradul de diferențiere tumorală (Figura 1.1.).

Prima variantă patogenică (70%)	A doua variantă patogenică (30%)
Obezitate Hiperlipidemie Semne de hiperestrogenemie Hemoragii uterine Infertilitate Debut tardiv al menopauzei. Adenocarcinomul endometrioid este cel mai frecvent (80-90%). Gradul de diferențiere – înalt sau moderat (G1, G2).	Se dezvoltă din endometrul atrofic Sunt prezente dereglări endocrin-metabolice Sunt non-endometrioid Nu au nicio asociere cu hiperestrogenemie endogenă sau exogenă. Gradul de diferențiere – scăzut (G3). Evoluție mai agresivă, de risc înalt de a dezvolta metastaze Are un prognostic nefavorabil

Fig. 1.1. Clasificarea patogenică a CE – modelul dualist

Prima variantă patogenică (constituie 70%) se caracterizează printr-o combinație de semne: hiperactivitate hipotalamo-hipofizară și ovariană, exprimată prin hiperestrogenemie și tulburări ale metabolismului lipidelor și carbohidraților. Simptomele clinice sunt proeminente: hemoragie uterină anovulatoare, hiperplazie a țesuturilor ovariene producătoare de hormoni, fibrom uterin, endometrioză internă, tip estrogenic de reacție colpocitologică la femeile aflate în postmenopauză, precum și obezitate, diabet zaharat și hipertensiune arterială. Clinic, acestea reprezintă tumori înalt sau moderat diferențiate, cu un prognostic favorabil.

În cazul celui de-al doilea tip patogenic (30%) nu sunt depistate dereglările endocrin-metabolice, istoricul medical este scurt, fără dereglări ale funcțiilor menstruale, ale metabolismului grăsimilor și carbohidraților, se prezintă fibroză stromală ovariană, atrofie endometrială la femeile aflate în postmenopauză [80]. Acest tip de carcinom nu este asociat cu influența estrogenilor, prin urmare, factorii hormonal de risc nu sunt principalii în patogeneză, ci se caracterizează, din punct

de vedere clinic, printr-o evoluție mai agresivă, de risc înalt de metastazare și un prognostic nefavorabil.

Valoarea patogenică rămâne incontestabilă vizavi de diferiți factori de risc, cum ar fi sindromul metabolic, hiperglicemia și obezitatea.

Totuși, potrivit unor cercetători, în prezent, această clasificare nu este suficientă pentru a determina tactica de management pentru paciente, precum și pentru a estima riscul de recidivă.

Metodele moderne de studiere a structurii ADN-ului, inclusiv analiza cluster, fac posibilă determinarea profilului genetic al tumorilor, care deseori nu coincide cu tabloul morfologic.

Astfel, putem presupune că introducerea unei clasificări bazate pe caracteristicile moleculare ale tumorilor va oferi medicilor posibilitatea de a elabora scheme individuale și de a majora eficacitatea tratamentului cancerului.

În prezenta revistă a literaturii sunt analizate diverse informații din literatura de specialitate, care permit compararea clasificărilor clasice și moderne, precum și evaluarea justificării acestora.

În cadrul studiului efectuat de Bansal N. et al. a fost realizată o descriere minuțioasă a modificărilor genetice specifice pentru fiecare dintre cele două tipuri patogenetice de CE [6] (Figura 1.2.).

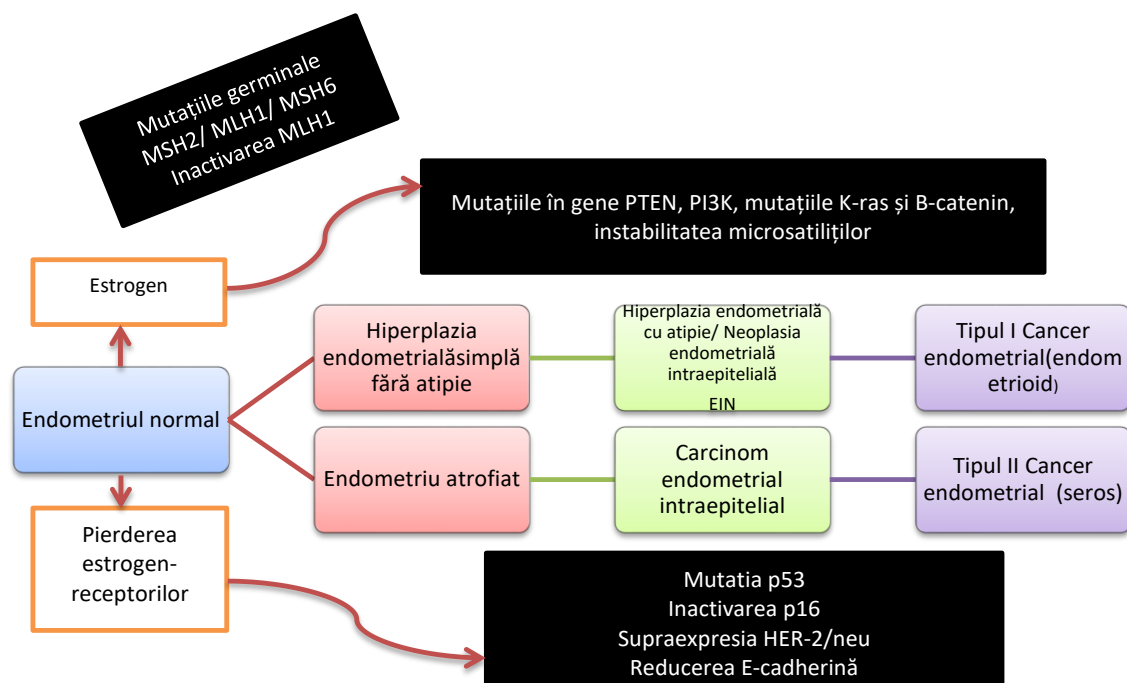


Fig. 1.2. Modificările genetice specifice pentru fiecare dintre cele două tipuri de tumori

Sursă: Bansal N., Yendluri V., Wenham R.M. The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. Cancer control : journal of the Moffitt Cancer Center [6]. (traducere de autorul tezei).

În schema de mai sus este expus apanajul fiziopatologic modern ce vizează declanșarea și evoluția CE, inclusiv conotația modificărilor genetice cu putere de activare a procesului de proliferare pe fondalul deprecierii mecanismelor de apoptoză, așa ca mutațiile genei *PTEN* în detrimentul exercițiului de blocare a ciclului celular și controlului raportului proteinelor cu efect pro-/anti-apoptotice, Bax/Bcl2, mutațiile factorului supresor tumoral *p53*, precum și reducerea expresiei E-caderinei, fapt ce facilitează creșterea și diseminarea tumorii. Mutațiile genei *PTEN* sunt evidențiate drept o condiție de inhibiție a apoptozei prin creșterea expresiei factorului antiapoptotic Bcl2.

Astfel, neoplaziile endometrioide se caracterizează prin multiple modificări, cele mai frecvente fiind mutațiile genei *PTEN* [1,10].

Produsul genei *PTEN* este un supresor tumoral, al cărui principală funcție este reglarea activității celulelor prin blocarea ciclului celular în faza G1/S, inhibarea migrării și adeziunii celulare, precum și inhibarea factorilor de creștere, care stimulează cascada proteinkinazelor activate de mitogen (MAPK).

De asemenea, cu ajutorul *PTEN*, sunt reglate mecanismele pro și anti-apoptotice (inclusiv controlul factorului BCL-2) [6]. Supresorul tumoral *PTEN* (fosfatază și omolog de tensină situat pe cromozomul 10) defosforilează PIP3 în PIP2, finalizând astfel calea de semnalizare PI3K. *PTEN* funcționează ca o fosfatază lipidică, care defosforilează fosfoinozitolul 3,4,5-fosfat în poziția 3', iar dezactivarea funcției *PTEN* provoacă activarea nesimetrică a PI3K.

Astfel, inactivarea genei *PTEN* determină creșterea necontrolată a celulelor și „evitarea” apoptozei celulare. De asemenea, inactivarea genei *PTEN* se produce în stadiile incipiente ale carcinogenezei, posibil, ca răspuns la influența factorilor hormonal.

S-a constatat că scăderea funcției *PTEN* are loc în 55% dintre cazurile de hiperplazie atipică și în 83% dintre cazurile de carcinom endometrial, iar mutațiile declanșatoare în kinaza PI3K, sunt observate în 25-30% dintre cazurile de cancer endometrial [39].

A fost evidențiat faptul că mutațiile genei *PTEN* sunt depistate în cancerul endometrial de tip 1, în 57-83% dintre cazuri, iar în tipul 2 – în 10% dintre cazuri [70].

O altă mutație genetică a acestui tip de tumoare este instabilitatea microsatelitică. În celulele tumorale apar alele suplimentare de microsateliți, care se dezvoltă ca rezultat al dereglării de replicare a ADN-ului. De regulă, se întâmplă din cauza inactivării *MLH1*, responsabil de repararea ADN-ului, asociat cu hipermetilarea insulei promotor CpG.

Instabilitatea microsatelitică este prezentă și în stadiile incipiente ale carcinogenezei [3]. Următoarele modificări sunt reprezentate de mutațiile *KRAS* (proteină adaptoare, care transmite semnalul de la factorii de creștere sau de la proteina kinază C pe cascadele MAPK) și β -catenina.

În studiul efectuat de Saegusa M. et al., autorii au indicat că, în timp ce mutațiile *PTEN*, *KRAS* și instabilitatea microsatelitică deseori coexistă, mutațiile β -cateninei apar, de obicei, izolat [78].

β -catenina este o proteină care face parte din complexul E-caderină, ce formează contacte celulare în țesutul epitelial. Aceasta este necesară pentru diferențierea celulară, menținerea unei structuri normale a țesuturilor și joacă un rol important în transmiterea semnalelor celulare.

În mod normal, β -catenina este instabilă și degradează rapid, însă ca rezultat al unei mutații, structura β -cateninei se stabilizează, fapt ce duce la acumularea acesteia în citoplasmă și nucleu, precum și la transcrierea sporită a genelor, care sunt responsabile de trecerea celulei în faza S a ciclului celular [79]. Drept urmare, este stimulată proliferarea celulară și, respectiv, este majorată capacitatea lor de invazie.

O serie de autori sugerează că β -catenina este o componentă a complexului transcripțional universal, care inițiază ciclul celular la orice stimul mitogen [152].

În opinia lui Lax S. et al. [10], cea mai frecventă modificare genetică pentru carcinoamele endometriale seroase de tip II, este mutația supresorului tumoral *p53* [45]. Funcțiile proteinei *p53* sunt asociate, în mod normal, cu reacția la deteriorarea structurilor celulare: astfel, *p53* activează genele (*p21* și altele) responsabile de stoparea diviziunii celulare; genele (*BAX*, *KILLER/DR5*, *PIG*) care declanșează apoptoza; genele (*TSP1*, *BAI1*) care inhibă angiogeneza; genele (*BCL-2*, *BCL-X*) care inhibă apoptoza. „Mutantul” *p53* se transformă nu doar într-o proteină inactivă, ci și se acumulează în celulă, inhibând acțiunea *p53* „spontan” și determină multiplicarea celulelor afectate.

S-a stabilit că mutațiile unei alele *TP53* se dezvoltă într-un stadiu incipient al carcinogenezei, pierderea celei de-a doua alele se produce mai târziu, pe măsură ce evoluează tumoarea [58, 66].

O altă modificare frecventă este inactivarea genei *p16* și creșterea expresiei genei *HER2/neu*; *p16* este un supresor tumoral al cărui inactivare provoacă creșterea necontrolată a celulelor. *HER2/neu* este un oncogen care codifică receptorul transmembranar al factorului de creștere epidermal (EGFR), implicat în transmiterea semnalelor celulare [47]. Amplificarea sau expresia crescută a genei *HER2/neu* are un rol important în patogeneza și evoluția tipurilor agresive de cancer.

Următoarea mutație este reprezentată de scăderea expresiei E-caderinei (proteină transmembranară a aderenței celulare), caracterizată prin scăderea puterii de aderență între celule, fapt care cauzează separarea și răspândirea celulelor tumorale, adică dezvoltarea de metastaze [3].

Metodele moderne de studiere a structurii ADN-ului fac posibilă determinarea profilului genetic al tumorilor, care deseori nu coincide cu tabloul morfologic. Potrivit cercetătorilor, acest fapt sugerează că clasificarea cancerului endometrial nu mai poate reieși dintr-un model dualist.

Astfel, determinarea corectă a subtipului molecular de tumoare reprezintă un aspect fundamental în estimarea prognosticului bolii.

Modelul actual al cancerului endometrial – o nouă eră genomică: clasificarea moleculară a carcinoamelor endometriale

Mai multe echipe de cercetători au definit profilurile imunohistochimice și molecular-genetice pentru a realiza diferențierea subtipurilor CE [6, 37, 49].

Într-o serie de cercetări, s-a reușit să se consolideze diferențierea dintre tipurile histologice ale CE de grad înalt în baza unui set de 7 markeri imunohistochimici [62], iar mai recent, o altă echipă de cercetători a demonstrat că un panel de 9 proteine a îmbunătățit identificarea subtipurilor CE atât din categoria de grad scăzut, cât și a celor de grad înalt [63].

Secvențierea cu panelul de 9 gene a permis relevarea profilurilor mutaționale distincte pentru principalele tipuri histologice ale CE [66]. Datele moleculare au fost, de asemenea, utilizate pentru a stratifica în continuare gradele de risc, utilizând profilul expresiei genice și analiza numărului de copii pentru a determina riscul de recurență [59, 60], chiar și în cazul unui stadiu incipient al bolii [61].

Caracteristicile molecular-genetice în cazul CE au fost, de asemenea, studiate în scop de obiective terapeutice, cu axare pe căile cu mutații frecvente, precum calea PI3K/PTEN/AKT/mTOR. Pentru definirea markerilor molecular-genetici sunt necesare mai multe studii, care reflectă mai exact agresivitatea tumorii [92,97].

Un studiu recent, care reprezintă o analiză integrativă a genomului în cazul a 373 de tumori endometriale, realizat de o echipă de cercetători de la Universitatea Washington (St. Louis, 2013) în cadrul proiectului *Cancer Genome Atlas (TCGA)*, a relevat că aproximativ 1/4 dintre tumori sunt clasificate ca fiind endometrioid, cu grad scăzut de diferențiere, cu fenotip molecular similar carcinoamelor seroase ale corpului uterin, inclusiv mutații *TP53* și anomalii ale numărului copiilor genelor somatice [117]. Din acest considerent, au fost evidențiate 4 paterne noi de neoplazie endometrială, în dependență de spectrul modificărilor molecular-genetice.

În cadrul unui studiu multicentric, Hussein Y. et al. [57] au analizat parametrii morfologici și clinico-patologici a 17 tumori din subgrupul TCGA „ultramutant”, precum și o cohortă formată din 8 astfel de tumori, care au fost studiate la Universitatea din Calgary (Canada) [12] (Figura 1.3.).

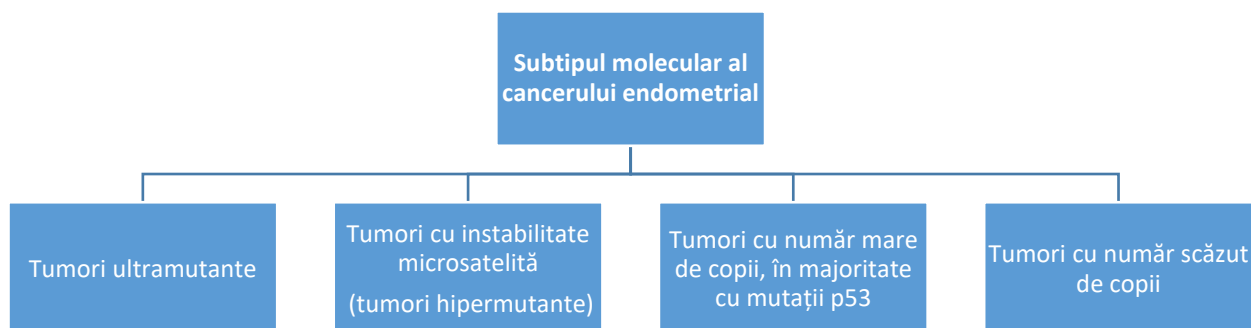


Fig. 1.3. Clasificarea moleculară a cancerului endometrial (*Cancer Genome Atlas*)

În baza acestora, dar și a altor studii, va fi prezentată o caracteristică generală a noilor subtipuri moleculare ale CE.

Tumori ultramutante

Aceste tumori se caracterizează printr-o înaltă frecvență a mutațiilor somatice, stabilitate microsatelitică, nivel scăzut de modificări în numărul copiilor genelor, mutații frecvente la nivelul genelor *PTEN*, *PIK3CA*, *ARID1A*, *KRAS* și un nivel de expresie a *CCNB1* (* β -catenină) sporit [39, 70, 78, 79].

Au fost identificate „mutații hotspot” (Pro286Arg, Val411Leu) în structura domeniului exonuclear al genei *POLE* [190]. Nu toate tumorile de endometru, care prezintă mutații *POLE*, pot fi considerate „ultramutante”, inclusiv pentru că astfel de mutații apar în afara domeniului exonuclear [12].

Gena *POLE* codifică subunitatea catalitică a ADN-ului polimerazei epsilon și este responsabilă de sinteza lanțului principal în timpul procesului de replicare a ADN-ului. De asemenea, are un rol important în recunoașterea și înlăturarea nucleotidelor [57].

Un grup de cercetători din cadrul TCGA (2013) a identificat anumite gene ale clusterului *POLE*, implicate în metabolismul celular [112], în special, în mecanismele gluconeogenezei, glicolizei, ciclului II al acizilor tricarboxilici, în transmiterea semnalului prin actina citoscheletului etc. [154].

Hussein Y. et al., care au studiat și structura morfologică a tumorilor, au demonstrat că practic, toate tumorile endometriale care conțin o mutație a genei *POLE* aveau cel puțin o componentă a diferențierii de tip endometrioid, însă a fost identificată și o eterogenitate intratumorală semnificativă [57].

Notabil este faptul că mutația *TP53*, caracteristică tumorilor endometriale seroase, a fost depistată în 6 dintre 17 tumori ale clusterului *POLE*. Având în vedere prognosticul clinic, tumorile „ultramutante” au cel mai bun prognostic, comparativ cu alte subtipuri moleculare [151].

În privința acestui fapt, există mai multe ipoteze. În primul rând, acest lucru poate fi asociat unui număr mare de mutații generale și specifice, precum și unei creșteri spontane a numărului de substituiri, incompatibile cu creșterea celulelor tumorale și supraviețuirea acestora [151].

De asemenea, într-un studiu realizat de León-Castillo E. et al., se evidențiază faptul că tumorile care conțin mutații ale genei *POLE* prezintă o expresie crescută a genelor responsabile de imunosupresie la sinteza moleculelor care pot participa la proliferarea tumorii [77].

O altă explicație pentru un prognostic favorabil este prezența unei „marje de eroare”: combinația polimerazei defecte a ADN-ului și pierderea totală a sistemului de reparare a nucleotidelor au efect letal, depășind, astfel, „pragul” respectiv [21, 22].

Particularitățile distinctive ale tumorilor care prezintă o mutație a genei *POLE*, pot cauza dificultăți în tratamentul acestor pacienți. Deoarece aceste tumori sunt asociate cu un prognostic clinic favorabil, riscurile privind complicațiile terapiei postoperatorii adjuvante pot fi nejustificate [20].

Totuși, Church D. et al., precum și Stelloo E. et al. subliniază că mutațiile genelor *POLE* sunt identificate în tumorile care corespund criteriului de risc înalt, în cazul cărora se recomandă, de obicei, radio- și chimioterapia postoperatorie. Numeroasele mutații în tumorile acestui subgrup, duc, de asemenea, la creșterea sensibilității la o anumită terapie [23, 24].

Nu este exclus efectul pozitiv de pe urma administrării inhibitorilor imunitari care țintesc moleculele de imunosupresie (PD1, PDL1) [25]. Potrivit datelor furnizate de Twyman-Saint V. et al., amplificarea acțiunii inhibitorilor imunitari prin utilizarea radioterapiei demonstrează un potențial rezultat pozitiv al unei astfel de combinații [30]. Un alt tip de terapie în cazul acestor tumori, are la bază conceptul de „marjă de eroare” menționat anterior. Teoretic, agenți precum nucleozidele mutagene sau inhibitorii de reparare a ADN-ului [47] pot fi utilizați pentru a crește

nivelul mutațiilor până la valori care depășesc acest „prag”, fapt care va duce la dispariția tumorii [25].

Tumori „hipermutante”

TCGA a descris și un subgrup molecular care se caracterizează prin instabilitate microsatelitică (MSI). MSI rezultă din defecte ce apar în sistemul de reparare postreplicativ al ADN-ului. În TCGA, MSI a fost determinată de un panel reprezentat de 4 locuri de repetare ale mononucleotidelor (secvențe poliadeninice BAT25, BAT26, BAT40 și receptor de tip II al factorului de creștere transformațional) și trei locuri de repetare ale dinucleotidelor (CA se repetă în D2S123, D5S346 și D17S250), suplimentar la markerii recomandați de Institutul Național de Cancer [10], ADN-ul tumoral a fost clasificat drept microsatelit-stabil (MSS) dacă zero markeri au fost modificați, drept MSI scăzută (MSI-L), dacă 1-2 markeri (sub 40%) au fost modificați și drept MSI înaltă (MSI-H), dacă trei sau mai mulți markeri (peste 40%) au fost modificați.

Tumorile acestui subgrup se caracterizează prin instabilitate microsatelitică cauzată de metilarea promotorului *MLH1* [11, 12]. De asemenea, există un nivel general înalt de mutații și un număr mic de modificări la nivelul numărului de copii ale genelor [12].

Tumorile cu instabilitate microsatelitică au un nivel înalt de expresie *PIK3CA*, dar și un nivel scăzut de expresie *PTEN* [1]. Potrivit TCGA (2013), niciuna dintre tumorile cu instabilitate înaltă a microsateliților nu a avut mutații în „hotspotul” genei *POLE* [121]. De asemenea, Byron S. et al. [28] au stabilit că mutațiile *KRAS* și *FGFR2* erau mult mai frecvente printre tumorile cu instabilitate microsatelitică, spre deosebire de mutațiile *CTNNB1*, care sunt specifice tumorilor cu stabilitate microsatelitică.

E necesar de a releva că, pe lângă mutațiile de gene, a fost identificat un număr semnificativ de defecte ale căilor celulare, inclusiv descompunerea treoninei II, a glicinei și a anandamidei.

Potrivit examinării histologice, în acest grup nu a fost inclusă nicio tumoră cu structură morfologică mixtă sau seroasă [11].

De asemenea, a fost detectată o instabilitate microsatelitică cu o frecvență mai mare în tumorile cu grad redus de diferențiere (G3), comparativ cu tumorile cu grad înalt de diferențiere (G1) [29, 30, 31]. Studiul tumorilor endometrioide realizat de Zighelboim I. et al. a demonstrat absența unei corelații între instabilitatea microsatelitică și rezultatul bolii [198], lucru confirmat și de DiazPadilla I. et al. într-o meta-analiză ce a inclus 23 de investigații [27].

Tumorile CN-high („Număr ridicat de copii”)

TCGA a evidențiat un subgrup molecular reprezentat prin analiza numărului de copii. Numărul de copii a fost determinat prin utilizarea tehnicii microarray Affymetrix SNP 6,0 cu ADN

provenit din țesut înghețat. Clusterizarea ierarhică a relevat recurențe semnificative de amplificări sau zone cu ștergeri și un subgrup CN-high („număr ridicat de copii”).

Subgrupul „CN-high” se caracterizează prin devieri pronunțate ale numărului de copii ale genelor somatice, un nivel general scăzut de mutații, modificări ale genelor *TP53*, *PIK3CA*, *CTNNB1*, scădere a nivelului proteinei fosfo-AKT, ceea ce a provocat dezactivarea căii de semnalizare a fosfo-AKT [117, 136].

Amplificarea focală a *ERBB2* (*HER2*), adesea în combinație cu mutațiile *PIK3CA*, a fost identificată în 1/4 dintre cazuri [11]. Potrivit lui Berns K. et al. și Kumari N. et al. o astfel de combinație de devieri în cazul cancerului glandelor mamare determină rezistența la anumite tipuri de terapie țintită [9, 68].

În general, acest cluster a relevat cea mai înaltă activitate transcripțională în baza unei dereglări evidente a ciclului celular (*CCNE1*, *PIK3CA*, *MYC*, *CDKN2A*) și a mutației *TP53* [11]. Atenție deosebită se acordă mutației genei *CHD4* (codifică subunitatea catalitică a complexului de remodelare a cromatinei), prezența mutațiilor în „hotspoturile” căreia, după cum menționează Kuhn E. et al., Zhao S. et al., precum și TCGA (2013), ne permite să presupunem că ar avea un rol-cheie în carcinogeneza tumorilor seroase și a tumorilor de tipul celor seroase [23, 69, 199].

Clusterul „CN-high” include majoritatea adenocarcinoamelor seroase și 1/4 dintre adenocarcinoamele endometrioide de tipul celor seroase din clasa G3, fapt care poate cauza o subevaluare a prognosticului bolii, care are la bază doar rezultatele unui studiu morfologic al neoplasmelor [36, 51]. Dintre toate subgrupurile, aceste tumori se evidențiază prin prognosticul cel mai puțin favorabil [97].

De asemenea, este relevant faptul că anomaliile numărului copiilor de gene somatice în cazul tumorilor endometrioide sunt rare, însă tumorile seroase și de tipul celor seroase demonstrează frecvența înaltă a acestora, care se corelează negativ cu supraviețuirea în absența progresării bolii [36].

Tumorile CN-low („Număr scăzut de copii”)

Toate eșantioanele rămase care nu au făcut parte din grupul ultramutant POLE, grupul MSI sau grupul de „CN-high”, au fost incluse în „CN-low”.

Grupul „CN-low” este format din tumori cu stabilitate microsatelitică G1-2, cu un nivel general scăzut al mutațiilor, dar cu modificări ale genei *PTEN* [113,152].

În procesul de analiză a dereglărilor căilor de semnalizare, cele mai semnificative schimbări au fost identificate în cazul acestui grup. Acestea includ mutațiile genelor *CTNNB1*,

KRAS, *SOX17* (reglează activitatea β -cateninei). În revista literaturii realizată de Le Gallo M. et al. mutațiile genei *SOX17* sunt descrise numai în cazul acestui subgrup [107]. De asemenea, aproximativ toate tumorile (92%) de tip CN scăzut prezintă modificări ale căii de semnalizare PI3K [123].

Conform structurii morfologice, predomină tumorile endometrioide cu diferit grad de diferențiere (cel mai frecvent, G1). Subgrupul se caracterizează și prin o creștere a expresiei receptorilor de progesteron, ceea ce poate indica o sensibilitate a acestor tumori la terapia hormonală [6, 37, 49].

1.3. Markeri moleculari ca factor de prognostic pentru cancerul endometrial

Markeri ai agresivității creșterii tumorii

Instabilitatea microsatelitică (IM) descrisă mai sus ca semn de diagnostic al unui defect de reparație postreplicativă are, de asemenea, semnificație prognostică.

Cauza IM este inactivarea genelor responsabile de repararea ADN-ului: *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*. S-a constatat că, în cazul mutației a cel puțin uneia dintre genele sistemului de reparații (*MSH2*, *MLH1*, *MSH3*, *PMS2*), riscul dezvoltării CE este de aproximativ 30% [5]. S-a depistat că MSI este mai caracteristic CE de tip 1 [4,6].

Prin metoda analizei fluorescenței, s-a vizualizat existența a 2 tipuri de modificări ale microsateliților la pacientele cu CE: tip A și tip B, asociate cu caracteristicile moleculare, clinice și patologice ale tumorilor. În același timp, MSI de tip B se corelează cu cancerul colorectal ereditar nonpolipozic [7].

Rata mare de acumulare a datelor brute (*raw data*) cu referire la genomica cancerului precum și dezvoltarea algoritmilor bioinformatici necesari pentru analiza, analiza repetată și compararea cohortelor reprezintă elemente cheie pentru obținerea noilor cunoștințe fundamentale (transformare *raw data* în *smart data*).

În studiul de față ne-am propus analiza repetată a unui set de date genomice obținute prin secvențierea a 197 probe de cancer endometrial și descărcate din baza de date publică *cBioPortal for Cancer Genomics* - Endometrial Cancer (MSK, 2018) [16].

Scopul cercetărilor a constat în separarea datelor genomice în două cohorte în baza prezenței sau lipsei instabilității microsatelitice și analiza profilului molecular a acestor cohorte. Probele cu lipsa valorii (NA) au fost excluse din studiu. În rezultat au fost obținute două seturi de date:

- SM (Stabilitate Microsatelitică) – 153 probe,

- IM (Instabilitate Microsatelitică) – 25 probe.

Analiza comparativă a datelor moleculare în cele două subtipuri de CE pune în evidență deosebiri majore ale profilului mutațional (Figura 1.4.).

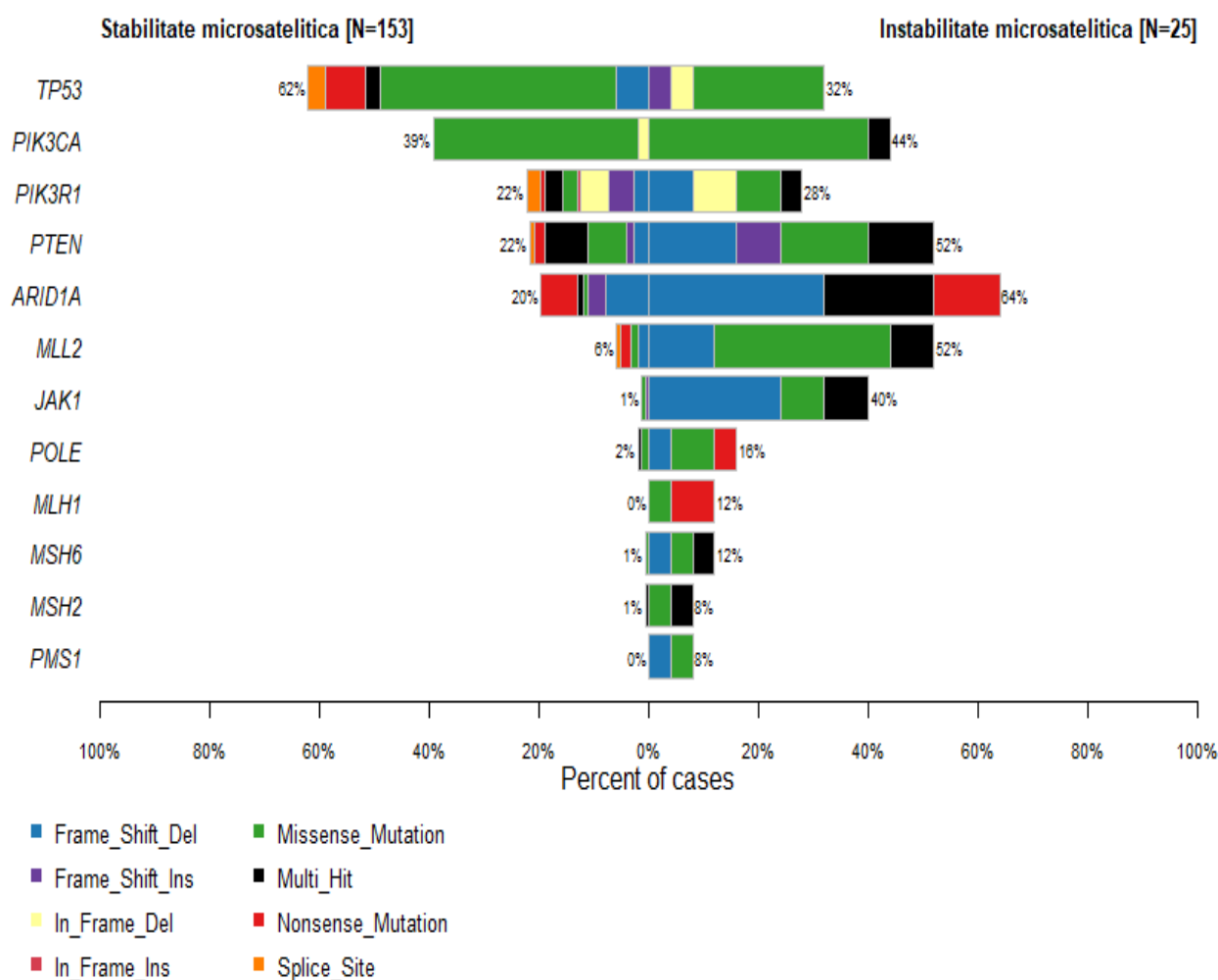


Fig. 1.4. Profilul mutațional al tumorilor endometrioide cu stabilitatea microsatelitică și instabilitatea microsatelitică

Sursă: cBioPortal for Cancer Genomics - Endometrial Cancer (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 2018) [16].

În cohorta SM se observă o frecvență de aproape 2 ori mai mare a modificărilor în supresorul tumoral *TP53* pe când în IM – o rată considerabil crescută a mutațiilor *PTEN*, *ARID1A*, *MLL2*, *JAK1*, *POLE*, *MLH1*, *MSH6*, *MSH2* și *PMS1*.

Clasele de SNV (Single Nucleotide Variation) în grupul IM comparativ cu SM au rate mai crescute a tranzițiilor T>C care se asociază cu semnătura mutațională nr. 5 și mai scăzute a transversiiilor C>G - markeri ai semnăturii 13 (Figura 1.5.). De asemenea la cohorta IM se observă o frecvență mai mare a delețiilor cu deplasarea cadrului de citire (Frame Shift Deletions).

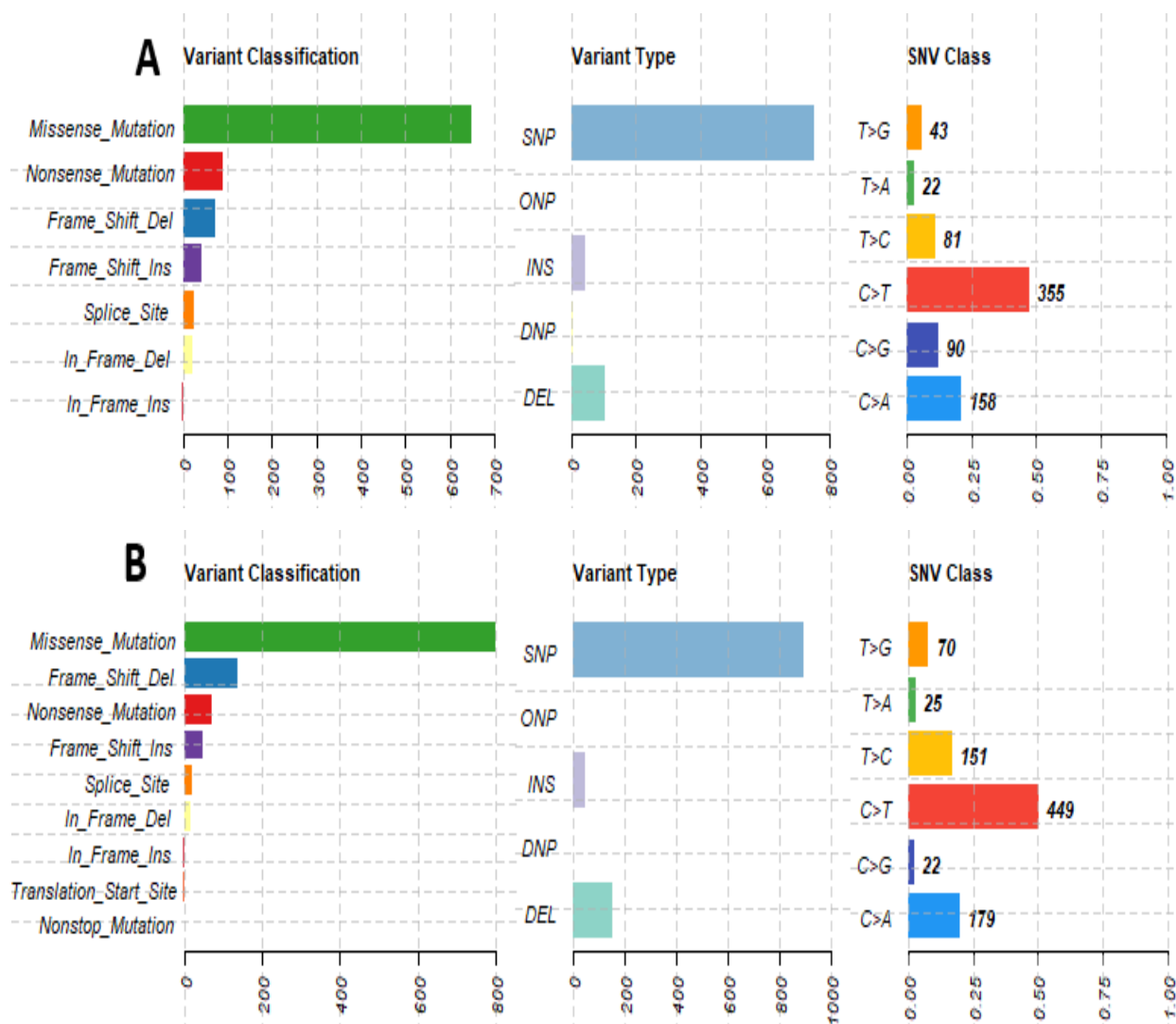


Fig. 1.5. Tipul variantelor genetice și clasele de SNV

Notă: A - Stabilitate microsatelitică; B – Instabilitate microsatelitică

Sursă: cBioPortal for Cancer Genomics - Endometrial Cancer (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 2018) [16].

Rezultatele analizei PEA (Pathway Enrichment Analysis) și TMB (Tumor Mutational Burden) sunt prezentate în figurile 1.6. și 1.7.

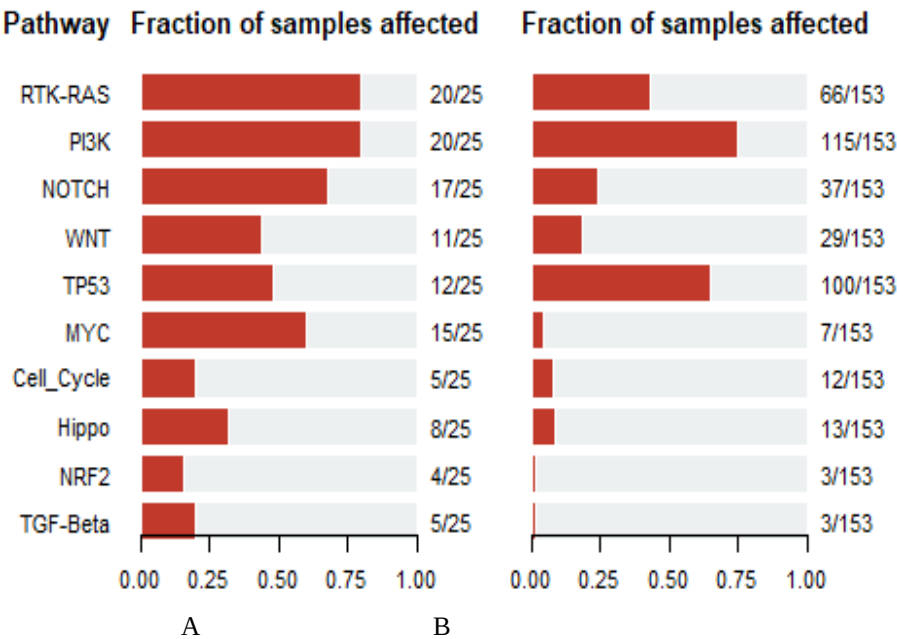


Fig. 1.6. Afectarea căilor de semnalizare

Notă: (A – Instabilitate microsatelitică; B – Stabilitate microsatelitică)

Sursă: cBioPortal for Cancer Genomics - Endometrial Cancer (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 2018) [16].

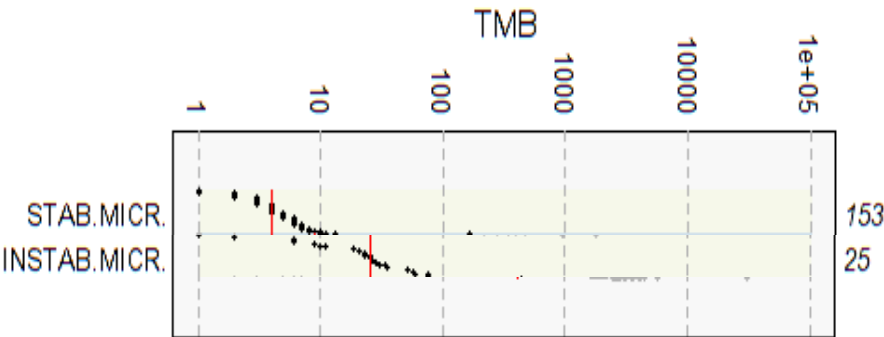


Fig. 1.7. Valoarea indicelui TMB (încărcătura mutațională a tumorii) în cohortele studiate

Sursă: cBioPortal for Cancer Genomics - Endometrial Cancer (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 2018) [16].

Conform deciziei FDA (Food and Drug Administration) din 16 iunie 2020, tumorile

metastatice nerezecabile, cu un indice TMB mai mare sau egal cu 10 mut/Mb (mutații per megabază de regiuni codificatoare a genomului tumoral) se aprobă a fi tratate cu preparatul pembrolizumab (Keytruda, Merck & Co., Inc.), astfel încărcătura mutațională a tumorii apare ca un important biomarker pentru imunoterapie. TMB în cele două grupuri de studiu a scos în evidență un indice mai mic de 10 mut/Mb în cazul SM și peste 10 mut/Mb în IM. Aceasta este o confirmare a faptului că tumorile cu instabilitate microsatelitică au un răspuns mai bun la tratament cu inhibitori ai punctelor de control imun (*immune checkpoint inhibitors*).

În studiul IM la 342 de pacienți cu stadiul I-IV EC la vârsta de 30-80 de ani, s-a constatat că în stadiul I a CE, rata de detectare a IM a fost de 30,8%, în funcție de invazia tumorii [10]. În grupul de pacienți cu localizare tumorală în fundul uterin, incidența IM a fost mai mare decât în grupurile cu altă localizare tumorală - 89,8%. Frecvența detectării IM la pacientele cu forme endometrioide de cancer a fost de 40,4% din cazuri, iar în grupul pacienților cu forme non-endometrioide - 6,0% [153].

S-a demonstrat că, IM se depistează în 19,0% din cazuri în tumori cu grad înalt de diferențiere, cu grad moderat de diferențiere - 41,5% și cu grad scăzut de diferențiere - 59,2% [197]. Astfel, indicele IM poate fi utilizat pentru a determina agresivitatea creșterii tumorale maligne ca un criteriu suplimentar pentru prezicerea prognosticului evoluției cancerului endometrial.

Proteina trans-membrană PD ca receptor pentru moartea celulară programată

Proteina trans-membrană, PD, are un rol important în diferențierea și proliferarea celulelor imune, iar pentru elucidarea diferitor aspecte ale acestei proteine în controlul imun al țesutului și posibilității de reactivare a limfocitelor citotoxice prin anihilarea proprietăți inhibitorii a PD privind exercițiul anticancer James P. Allison și Tasuku Honjo au fost decernați în anul 2018 premiul Nobel în Medicină.

Stimularea antigenică sustenabilă în cancer, conduce la expresia durabilă a receptorului PD-1 pe limfocitele T (CD8) și, respectiv, la o creștere a expresiei liganzilor PD-L1 pe celulele tumorale [25]. Astfel, tumora poate scăpa de răspunsul imun prin expresia ligandului PD-L1, care, prin legarea la receptorul PD-1 de pe limfocitele T, le perturbă activitatea citotoxică prin reducerea eliberării de citokine (Figura 1.8.). Mai mult, PD-L1 este nu numai un inhibitor al răspunsului imun, dar și un inductor al apoptozei limfocitelor T. În cadrul evaluării expresiei PD-L1, PDL2 (liganzi ai morții celulare programate 1 și 2) s-a constatat o creștere a expresiei PD-L1 la 92% dintre pacientele cu CE, în timp ce expresia PDL2 rămâne diminuată [30].

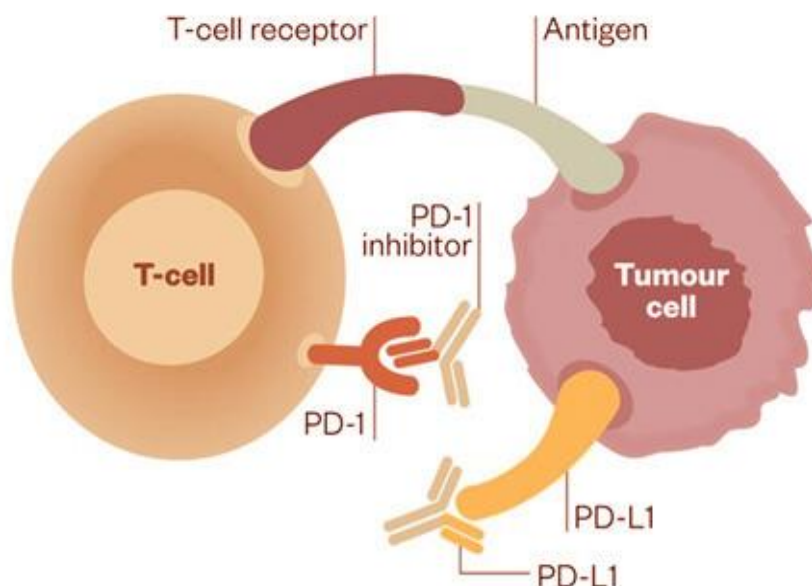


Fig. 1.8. Proteină trans-membrană PD și răspunsul imun

Sursă: Pasanen A., Ahvenainen T., Pellinen T. et al. PD-L1 Expression in Endometrial Carcinoma Cells and Intratumoral Immune Cells: Differences Across Histologic and TCGA-based Molecular Subgroups. The American journal of surgical pathology, 2020, vol. 44, nr. 2, p. 174–181. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001395> (traducere de autorul tezei).

Studiul nivelurilor de expresie a IDO (indolamină 2,3-dioxigenază), PD-L1, PD-L2, B7-H4, galectine 1 și 3 în probe de țesut de la pacientele cu CE (72 de paciente cu vârsta cuprinsă între 39 și 74 de ani) a arătat o creștere a expresiei IDO la 38%, 63% și 43% dintre tumorile primare, carcinoamele recurente și, respectiv, carcinoamele metastatice.

Expresia PD-L1 a fost pozitivă în 83% dintre tumorile primare, 68% dintre carcinoamele recurente și 100% dintre carcinoamele metastatice, în timp ce expresia B7-H4 s-a identificat în 100% dintre carcinoamele primare și recurente și 96% dintre carcinoamele metastatice. În același timp, nivelurile de expresie ale galectinei 1 și 3 nu au diferit semnificativ în probele normale și tumorale [47].

Inhibarea PD-L1/PD-1 este o cale promițătoare în terapia CE, deoarece va duce la activarea celulelor sistemului imun, în special a limfocitelor T, care au un efect citotoxic asupra celulelor canceroase. Eficacitatea clinică și toxicitatea scăzută a anticorpilor antiPD-L1/antiPD (BMS936559, MPDL3280A și MEDI-4736) au fost dovedite în tratamentul CE. S-a stabilit că în cazul CE chimioterapia (paclitaxel, doxorubicină și carboplatină) în combinație cu anti-PD-L1/PD-1 poate reduce doza de medicamente pentru chimioterapie și, prin urmare, poate reduce efectele lor secundare [30].

Markeri ai activității proliferative în cancerul endometrial

Activitatea proliferativă este un factor principal în mecanismul de transformare malignă a celulelor și în comportamentul biologic al unei tumori deja formate [133]. Până în ziua de azi, proliferarea celulelor tumorale a fost examinată prin numărarea mitozelor, determinarea regimului mitotic și citometrie [124].

Cu toate acestea, în prezent, au fost dezvoltate metode noi mai informative pentru a determina caracteristicile proliferării celulelor tumorale maligne [131].

Pentru evaluarea activității proliferative au fost dezvoltate trei metode principale:

- administrarea unui precursor de ADN sintetic - BDU (5-bromo-2-deoxiuridină) preoperatoriu, urmată de evaluarea imunohistochimică;
- determinarea antigenului Ki-67;
- determinarea antigenului nuclear celular proliferant (PCNA).

În acest sens, cel mai promițător marker al proliferării este antigenul Ki-67, care este exprimat în aproape toate fazele ciclului mitotic și, în consecință, reflectă dimensiunea fazei proliferative [2].

Conform unor studii, activitatea proliferativă este direct corelată cu gradul de malignitate histologică, gradul de invazie, prezența metastazelor [28], în timp ce există o relație inversă între nivelul Ki-67 și prezența receptorilor la hormoni steroizi [2].

În prezent, a fost efectuat un număr destul de mare de studii pentru a studia markerii proliferării în diferite tumori [2, 28, 158]. S-a constatat că indicele de proliferare este un semn de prognostic independent care determină probabilitatea recurenței, supraviețuirii globale și fără recidivare [32, 37].

Rolul fiziopatologic al antigenului Ki-67 în viața celulară nu este încă clar. Cu toate acestea, prezența sa în toate fazele active ale ciclului mitotic permite ca această proteină să fie utilizată ca un marker universal al proliferării în evaluarea activității de creștere a neoplasmelor maligne. Rata de creștere a tumorii conține informații foarte importante pentru determinarea naturii oncologice a tumorii și a agresivității acesteia [59]. În astfel de cazuri, indicatorul activității sale proliferative este unul dintre factorii decisivi luați în considerare la alegerea unei strategii de tratament. În plus, în prezent, împreună cu evaluarea parametrilor cantitativi ai proliferării, s-a început un studiu activ al substanțelor care reglează trecerea celulelor prin ciclul mitotic [45]. Aceste substanțe includ cicline și inhibitori ai kinazelor dependente de ciclină, care reglează tranziția celulelor de la faza G1 presintetică la faza S (sinteza ADN). Activitatea kinazei dependente de ciclină depinde de inhibitorul corespunzător în așa fel încât, odată cu funcționarea sa intensă, apare un bloc în faza G1 și se induce apoptoza și, dimpotrivă, când activitatea sa este

suprimată, celulele se mișcă liber ciclul mitotic [59]. Cei mai studiați inhibitori ai kinazei dependente de ciclină au fost următorii: p15, p16, p18, p19, p21, p27, p57. Conform literaturii, o scădere a expresiei kinazelor dependente de ciclină se datorează degradării dependente de ubiquitină-proteozom, care este însoțită de progresia tumorii și prognostic nefavorabil [62].

Markeri moleculari ai apoptozei ca factor de prognostic pentru cancerul endometrial

Apoptoza ocupă un loc de frunte în embriogeneză și în involuția țesuturilor, în menținerea echilibrului celular în condiții fiziologice și în îndepărtarea celulelor cu leziuni genetice, radiații, creștere și diferențierea terminală; sănătate și boli [32]. Echilibrul proceselor proliferative, diferențierea și apoptoza este cheia funcționării normale a celulelor. Transformarea malignă a celulelor se bazează pe activarea oncogenelor celulare unice sau multiple sau a genelor supresoare [34].

Analiza datelor din literatura de specialitate a arătat că, în procesele hiperplazice și CE, au fost studiate doar legăturile individuale ale mecanismelor de apoptoză mitocondrială mediată de factorul necrozei tumorale și mitocondriale [31]. În CE, valoarea prognostică a oncogenelor *bcl-2*, *bax*, *c-erb B-2* \ *HER2* \ *neu*, *c-myc* și antioncogene *p53* a fost studiată cel mai bine.

Bcl-2 este gena principală care determină mecanismul morții celulare, suprimând apoptoza. Această genă codifică formarea unei proteine care se acumulează în mitocondrii [41].

Expresia *Bcl-2* este asociată cu factori care indică un prognostic favorabil, deoarece se corelează cu prezența receptorilor pentru hormonii steroizi și un grad scăzut de malignitate [9, 60, 109].

Conform literaturii, expresia ridicată a *Bcl-2* este detectată în endometrul proliferativ și hiperplastic normal fără atipie, în timp ce în hiperplazia atipică și în adenocarcinom, expresia acestuia scade semnificativ [71]. Acest lucru confirmă faptul că acest protooncogen nu este implicat în procesele de carcinogeneză, diferențele semnificative relevate în expresia protooncogenei în hiperplazii simple și atipice sugerează posibilitatea utilizării *Bcl-2* în diagnosticul diferențial al acestor forme de hiperplazie.

Există dovezi că expresia *Bcl-2*, indicele *Bcl-2/Bax* pot fi indicatori independenți ai supraviețuirii globale și fără recidivare [87]. În plus, în tumorile endometriale, spre deosebire de endometrul normal, atrofic sau hiperplazic, expresia *Bax* este de obicei destul de mare (85-89%).

Un antagonist funcțional al proteinei *Bcl-2* este *p53*. Mutația genei *p53* joacă un rol cheie în carcinogeneză. *P53* este un produs al unei gene supresoare care reglează trecerea celulelor prin ciclul celular; dacă este necesară repararea ADN-ului, aceasta inhibă proliferarea celulară. Gena supresoare *p53* codifică o proteină nucleară care modulează expresia genelor responsabile de

repararea ADN, de diviziunea celulară și de apoptoză [88]. În cel puțin jumătate dintre toate cazurile de tumori maligne, mutațiile se găsesc în cromozomul 17 în localizarea genei supresoare *p53* [77].

Rolul principal al genei *p53* este reglarea proceselor de diviziune și controlul stabilității genomului. Această genă este sintetizată constant în celule, dar este o proteină de scurtă durată. Mutațiile genei *p53* duc la supraexprimarea acestei proteine, care este determinată de imunohistochimie. Mutațiile genei *p53*, care se găsesc adesea în tumori, duc la sinteza unei proteine funcțional defecte, cu stabilitate și acumulare ridicate în nucleu, care este imunohistochimic exprimată prin o colorare nucleară distinctă.

S-a depistat că domeniul AF-2 și domeniul de reglare C-terminal al genei oncosupresoare *p53* sunt capabile de interacțiune [62]. Formarea acestui complex duce la pierderea transcripției genelor dependente de *p53*, care includ: gene a căror activare contribuie la suprimarea ciclului celular; gene implicate în apoptoza dependentă de *p53* (*Bax*, gena receptorului Fas, gena *IGFBPs*); gene care codifică inhibitori ai angiogenezei (trombospodina I) [70].

Astfel, mutațiile *p53* joacă un rol important în patogeneza creșterii tumorale și sunt asociate cu agresivitatea evoluției clinice a bolii și cu rezistența tumorii la chimioterapie și radioterapie [107, 113, 123, 152].

Rolul PTEN în cancerul endometrial

În prezent, o mare importanță în procesele de carcinogeneză se acordă supresoarelor tumorale, inclusiv proteinei PTEN, care are activitatea tirozin-fosfatazei. *PTEN* este o genă supresoare de tumori și codifică sinteza unei proteine cu rol în reglarea ciclului celular. Aceasta participă în calea de semnalizare PI3K-AKT care, la rândul său, este implicată în patogeneza cancerului. Substituția c.389G>A este una dintre cele mai frecvente mutații a genei *PTEN*, este o alterație patogenică (scor de patogenitate FATHMM 0,99) și presupune înlocuirea guaninei din poziția 389 cu adenină. De obicei aceasta apare sporadic sub formă de mutație somatică însă uneori poate fi transmisă și pe linie germinală (sindromul Cowden) (Figura 1.9.).

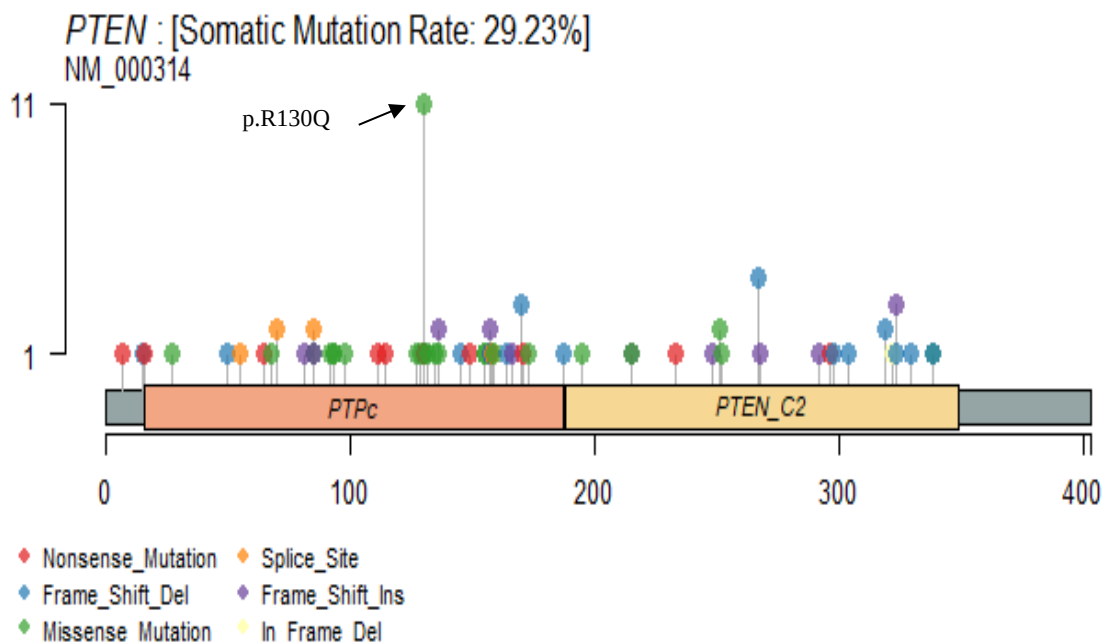


Fig. 1.9. Frecvența mutațiilor *PTEN* în setul de date genomice Endometrial Cancer

Sursă: cBioPortal for Cancer Genomics - Endometrial Cancer (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 2018) [16].

Astfel, *PTEN* suprimă efectele antiapoptotice ale călei de semnalizare P3K-PKB/AKT (fosfoinozitol-3 kinază/serin-treonină protein kinază/cale de semnalizare AKT). Forma activată a PKB/AKT este capabilă să blocheze apoptoza în mai multe moduri fără a implica *Bcl-2* [1, 10]. Astfel, rolul important antitumoral al *PTEN* devine clar. S-a demonstrat că efectul biologic al IGF este parțial mediat prin activarea căii de semnalizare a fosfoinozitol-3 kinazei/serin-treoninei protein kinazei/AKT. La această noimă, au apărut date noi care arată că *PTEN* este implicat și în aderența și migrația celulară, ceea ce sugerează un rol important al *PTEN* în invazia și metastazarea tumorilor [39] (Figura 1.10.).

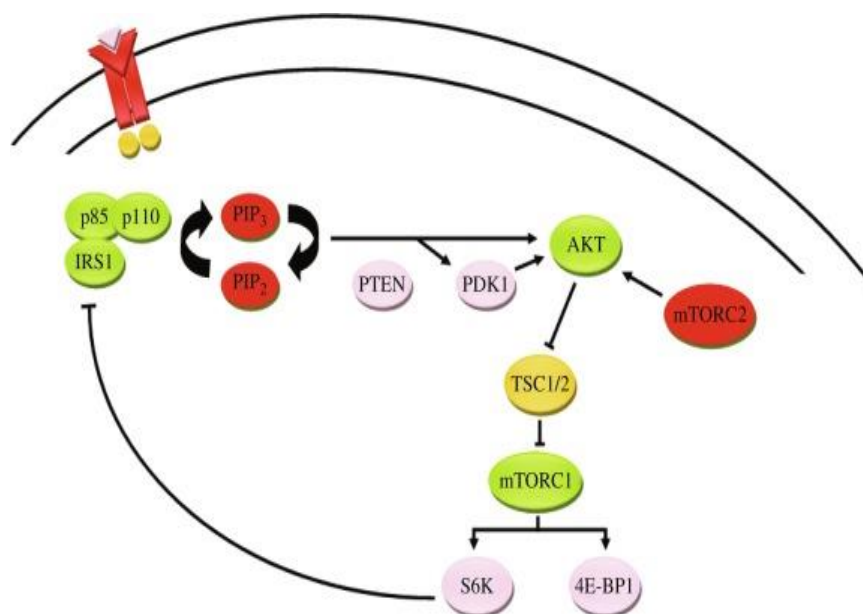


Fig. 1.10. Rolul mutațiilor *PTEN* în calea de semnalizare P3K-PKB/AKT (fosfoinozitol-3 kinază/serin-treonină protein kinază/cale de semnalizare AKT)

Sursă: Pavlidou A., Vlahos N.F. Molecular alterations of PI3K/Akt/mTOR pathway: a therapeutic target in endometrial cancer. In: Scientific World Journal, 2014, p. 709-736. doi: 10.1155/2014/709736 [105].

Folosind metoda RT-PCR, s-a depistat că nivelul mRNA al *PTEN* în faza luteală a ciclului menstrual normal a fost de 7 ori mai mare decât în cel proliferativ, ceea ce se explică aparent prin inducerea expresiei *PTEN* de către progesteron [106].

Spectrul mutațiilor *PTEN* este destul de divers; tumorile endometriale se caracterizează prin mutații multiple *PTEN* și dezechilibrul alelic. În general, mutațiile *PTEN* se găsesc în aproximativ 35-40% dintre tumorile endometriale [103,116].

Într-o stare homozigotă (așa-numitul genotip nul), mutațiile genice duc la o pierdere completă a expresiei proteinelor, care este detectată imunohistochimic ca absența colorării specifice.

Într-un procent redus de cazuri, mutațiile *PTEN* sunt detectate în endometrul hiperplazic, ce reflectă primele etape ale carcinogenezei în endometru, deoarece funcția de bază a genei *PTEN* constă în temperarea creșterii și dividerii necontrolate a celulei [113]. Cu toate acestea, studiile morfologice și epidemiologice ale hiperplaziei endometriale atipice au arătat că pierderea expresiei endometriale *PTEN* nu este markerul specific, care decelează transformarea hiperplaziei glandulare atipice în adenocarcinom [55].

În mai multe cercetări a fost studiată relația dintre instabilitatea microsatelitică și mutațiile *PTEN* în tumorile endometriale. Instabilitatea microsatelitică (MSI) este o reflectare a disfuncției

genelor sistemului de reparare a ADN-ului în celule și, în plus, este un semn important de prognostic al CE.

Astfel, rata de supraviețuire la 5 ani fără recidivare la pacientele cu CE în stadiile I-II cu instabilitate microsatelitică a constituit 63%, în timp ce la pacientele cu CE fără instabilitate microsatelitică a fost de 96%, $p=0,0004$ [41]. În acest studiu, MSI a fost detectată la 20%, iar mutațiile *PTEN* - la 36%. S-a depistat că în tumorile cu MSI, mutațiile *PTEN* au fost observate semnificativ mai des decât în tumorile stabile (58% și, respectiv, 30%) și, în plan de prognostic, pacientele cu CE cu MSI în combinație cu *PTEN* au avut un stadiu mai avansat al bolii și un prognostic mai nefavorabil (testul log-rank $p=0,044$) comparativ cu pacientele fără aceste mutații genetice.

Terakawa N. et al. au demonstrat că mutațiile *PTEN* sunt asociate de fosforilarea protein-kinazei B (AKT) și reprezintă un factor semnificativ statistic de prognostic precar la pacientele cu CE [128,151]. Fosforilarea factorului de transcripție akt a fost maximă în cazul când gena *PTEN* nu a fost expresată. Această evidență coroborează rolul fosforilării akt controlată de *PTEN* în patogenia CE, iar aportul principal decelat constă în fosforilarea proteinei intracelulare pro-apoptotice Bad, fapt ce rezultă în periclitarea apoptozei celulelor cancerigene.

În plus, expresia normală fără mutații a genei *PTEN* se impune printr-un prognostic mai favorabil la pacientele cu CE care urmează tratament farmacologic, inclusiv la conotația riscului de metastazare. *PTEN* defosforilează kinaza de adeziune locală, determinând în consecință migrarea și diseminarea celulară, iar în cazul când expresia *PTEN* este compromisă se instalează paternul fenotipic metastatic și agresiv notabil al cancerului endometrial [1]. Analiza datelor din literatura de specialitate a arătat că există multe aspecte nestudiate ale expresiei *PTEN* în endometrul hiperplazic și malign.

Markeri ai angiogenezei în prognosticul metastazării și recurenței cancerului endometrial

Principalele manifestări ale diseminării maligne sunt creșterea invazivă și metastazarea. Neoangiogeneza - procesul de formare a vaselor sanguine noi - este cel mai important factor patogenetic vizavi de răspândirea procesului tumoral [11, 21, 49].

La momentul actual au fost obținute dovezi clinice și experimentale concludente care confirmă dependența metastazării de neoangiogeneză [26, 29]. Determinarea riscului de recurență, dezvoltarea metastazelor este posibilă prin aprecierea gradului de dezvoltare a vaselor sanguine în tumoră.

EGFR (gena receptorului factorului de creștere epidermală) și RAS-RAFMAP (proteina

kinază activată cu mitogen) sunt considerate ca gene cu o receptivitate crescută la terapia cu inhibitori de tirozin-kinază.

Au fost identificate trei gene din această clasă: *PIK3R1*, *PIK3R2* și *PIK3R3*, care sunt activate în celulele tumorale umane sub influența mutațiilor somatice. Cascada kinazei IA PI3K-mTOR este declanșată prin receptorii tirozin kinazei. PI3K-kinaza poate fi activată și de receptorii proteinei RAS sau ai proteinei G. Produsul de reacție rezultat PIP3 este hidroxilat la a 3-a poziție a PIP2.

Funcția principală a EGFR este metabolismul fosfatidilinozitolului și participarea la sistemul genei RAS. Supraexpresia EGFR a fost detectată la 50-80% dintre pacienții cu CE de tip 2 [196].

S-a demonstrat că frecvența detectării EGFR la pacienții cu CE scade semnificativ la vârsta de peste 65 de ani și cel mai des se decelează la pacienții cu vârsta sub 55 de ani, în timp ce nu s-a găsit nicio corelație între vârsta pacienților și prezența EGFR în țesutul tumoral [174].

Mutațiile *TP53* se întâlnesc cel mai des în varianta patogenică a două în CE - în 9-54% de cazuri de carcinoame non-endometrioide și în mai mult de 90% de cazuri de carcinoame seroase. La pacienții cu CE de tip 1 acestea sunt detectate doar în 2-20% de cazuri [179].

O creștere a expresiei genei *Bcl-2* în carcinoamele endometriale în comparație cu țesuturile normale, precum și o creștere a expresiei genelor pentru interleukina 8 (IL-8) și metaloproteinazele matricei – MMP-3, MMP-8 [22], care sunt implicate în angiogeneza, proliferarea, migrația și diferențierea celulelor, apoptoza, inhibarea creșterii tumorale, pot fi considerați ca markeri incontestabili ai oncogenezei CE.

Când s-a studiat rolul expresiei adrenomedulinei (AM) și al *Bcl-2* în carcinogeneza CE a fost determinată o creștere a expresiei AM la pacienții cu CE și o scădere a expresiei *Bcl-2*, [67]. S-a constatat că expresia AM crește în transformare de la patologii endometriale cu caracter benign la neoplaziile endometriale intraepiteliale și adenocarcinoame, în timp ce expresia *Bcl-2* scade în timpul transformării de la neoplaziile intraepiteliale la carcinom [81].

S-a stabilit că FGF (factorul de creștere a fibroblaștilor), împreună cu calea tirozin-kinazei, este implicat în reglarea activității celulare [88]. Prin urmare, în prezent se studiază posibilitatea utilizării inhibitorilor receptorilor FGF (FGFR). Cu toate acestea, în prezent terapia anti-FGFR este la etapa inițială a studiului, deoarece este foarte dificilă implementarea acestei abordări datorită toxicității sporite a medicamentelor.

S-a decelat o creștere semnificativă a expresiei c-erbB-2, care codifică proteina p185 (receptorul transmembranar din familia receptorilor pentru factorul de creștere epidermală) și MIF (factorul inhibitor al migrației macrofagelor) la pacienții cu carcinom endometrial, însă nu s-a

determinat corelația în contiguitate cu vârsta, stadiul tumorii, gradul de diferențiere tumorală, invazia miometrului și metastazarea tumorii [93].

Markerul molecular COX-2 ca factor de prognostic pentru recurență cancerului endometrial

Trebuie de remarcat faptul că o direcție promițătoare în terapia antitumorală în CE este utilizarea inhibitorilor COX-2. S-a demonstrat că nimesulida inhibă semnificativ angiogeneza în celulele adenocarcinomului endometrioid [27], iar acidul acetilsalicilic și rofecoxibul accelerează apoptoza [41]. Se cunoaște, că ciclooxygenaza-2 (COX-2) este exprimată în celulele canceroase, ducând la inhibarea apoptozei, activarea neoangiogenezei și la creșterea aderenței celulelor la matricea extracelulară, ceea ce duce la o creștere a potențialului metastatic al tumorii și la un prognostic nefavorabil al cancerului.

S-a constatat că ciclooxygenazele, în principal COX-2, sunt decelate în CE, ce este însoțit de deprecierea supraviețuirii generale la pacientele cu CE după tratamentul chirurgical. Astfel, în absența expresiei COX-2, rata de supraviețuire generală și fără recidivare la 5 ani este de 92% și, respectiv, 88% și, cu expresia acestei proteine, scade la 52% și, respectiv, 48% ($p=0,0004$; $0,0005$). Pentru COX-1 s-au obținut rezultate similare, dar cu un grad mai mic de fiabilitate ($p=0,02$). Cancerul endometrial a avut un prognostic extrem de nefavorabil, la o expresie sporită a COX-2 și COX-1 [86].

Supraviețuirea globală la 5 ani la pacientele cu CE cu un nivel crescut de COX-2 scade semnificativ, dispensabil de stadiu (I-II), vârstă, gradul de diferențiere tumorală, profunzimea invaziei în miometru [23].

La studierea rolului COX-2 și COX-1, a mucinelor (MUC-1, MUC-2), receptorilor de estrogen și progesteron, antigenului Ki-67, oncoproteinei HER2/neu, s-a constatat că singurul factor care reduce semnificativ supraviețuirea la 5 ani ($p=0,04$) și fără recidive ($p=0,05$) a pacientelor cu CE este o expresie ridicată a COX-2 în celulele tumorale [124].

Prezintă interes sporit studiile privind expresia genelor responsabile de activitatea estrogenilor. S-a constatat că nivelul de expresie al genei pentru sulfataza steroidă și activitatea enzimei sunt de 1,5-3 ori mai mari în țesutul tumoral al endometrului în comparație cu țesutul sănătos [26]. Astfel, o creștere a expresiei genei sulfatazei steroidice și o creștere a activității enzimatică în endometru ar trebui considerate ca un predictor al riscului de recidivă al CE.

La studierea enzimelor metabolismului estrogenului, s-a relevat că pacientele cu CE prezintă mutații în genele CYP19 și SULT1A, precum și în enzimele citocromului P450 (CYP1A1 și CYP1A2) [138, 168]. Studiul genelor pentru detoxifierea xenobioticelor CYP1A1, GSTM1,

GSTP1 a arătat o creștere a frecvenței formelor mutante ale acestor gene la femeile cu CE, ceea ce confirmă importanța lor ca predictor ai CE [86, 173]. Un studiu detaliat al acestei probleme va face posibilă stabilirea factorilor de prognostic pentru CE, iar studiul caracteristicilor molecular-genetice ale celor două variante ale CE va contribui la estimarea riscului de recidivă pentru fiecare pacienta aparte.

1.4. Rolul inflamației în cancerogeneză.

Răspunsul inflamator sistemic și carcinogeneza

Rudolf Virchow în 1863 a sugerat pentru prima dată existența unei legături între inflamația cronică și dezvoltarea neoplasmelor maligne.

Inflamația joacă un rol important în proliferarea celulelor tumorale, angiogeneza, metastazare și protejează tumora de sistemul imun. Micromediul tumorii este unul dintre factorii importanți care îi afectează agresivitatea, capacitatea de progresie și metastazare.

Micromediul tumorii se modifică pe măsură ce crește și progresează. Nu numai factorii locali asociați tumorii, ci și celulele circulante ale sistemului imun și mediatorii inflamației au un impact semnificativ asupra micromediului. În tumori nivelul circulant al neutrofilelor este ridicat, fapt ce cauzează și creșterea raportului neutrofile/limfocite, fapt recunoscut drept un marker general și nespecific al tumorii.

Potrivit opiniei expuse recent de Wu L. et al. (2020) infiltrarea neutrofilelor în zona tumorii consemnează un rol versatil în fiziopatologiei tumorii [189]. Radicalii liberi de oxigen, proteazele, citokinele proinflamatorii (în primul rând IL-17), chemokinele și conținutul intracelular eliberat în cadrul morții neutrofilelor prin apoptoză sau periptoză, fenomen definit ca NETosis (Neutrophil Trap Lysis).

Semnificația fiziopatologică a neutrofilelor constă nu numai în realizarea răspunsului imun celular nespecific sau adaptarea acestuia la răspunsul imun adaptiv, dar și asigurarea rezoluției, vindecării leziunii tisulare. Micromediul tumorii reprezintă o „rană care nu se vindecă”, iar pasajul neutrofilelor este declanșat de chemokinele eliberate de macrofagele rezidente, de patenele moleculare derivate de celulele adiacente tumorii lezate și de radicalii liberi de oxigen. Odată infiltrate neutrofilele vor facilita procesul de angiogeneza și de injurie a matricei extracelulare prin activarea metaloproteinazelor (colagenazele, gelatinazele și stromlizinele) care vor deveni un suport de creștere a tumorii, precum și de metastazare. Neutrofilele participă activ în asigurarea procesului complex de cascadă privind metastazarea, facilitând evenimentele de intravazare, supraviețuire și extravazare a celulelor cancerigene.

Totodată, neutrofilele „ajută” celulele tumorale să scape de supravegherea imună, contribuind la acidoza tumorală prin mobilizarea ATPazei pompei H^+ , care poate împiedica activitatea antitumorală a celulelor natural killer (NK) și a celulelor T.

Remarcabil, că colocalizarea neutrofilelor cu celulele tumorale prin expresia moleculelor de selectină prezente pe suprafața celulelor neutrofile, facilitează aderența celulelor tumorale și a neutrofilelor la endoteliu, asigurând, astfel, extravazarea și metastazarea prin sânge a tumorii.

Cu toate acestea, recent a devenit cunoscut faptul că neutrofilele joacă un rol important în neoplazmele maligne. Acest lucru se datorează parțial recunoașterii faptului că dezvoltarea inflamației în organism, pe de o parte, este asociată cu neutrofile și, pe de altă parte, este o caracteristică importantă a multor tumori [128, 170, 181].

S-a demonstrat că neutrofilele pot fi celule efectoare active cu funcții antitumorale [8]. Diverși compuși antimicrobieni și citotoxici conținuți în granulele lor pot distruge celulele maligne, iar citokinele și chemokinele secretate de neutrofile pot activa și alte celule cu activitate antitumorală [5, 7, 9].

În procesul de progresie și creștere a tumorii, unul dintre locurile principale este atribuit interacțiunii tumorii cu micromediul. Pe măsură ce tumora crește și se dezvoltă, celulele sistemului imunitar din mediul său se schimbă, se reprogramează și devin pro-oncogene.

Fibroblaștii și macrofagele din micromediul tumorii ar trebui să suprimă creșterea acestuia, cu toate acestea, aceste celule pot fi „învățate” de către tumoare și pot prezenta proprietăți pro-oncogene.

Fibroblaștii asociați tumorilor (CAF) sunt una dintre principalele surse de factor de creștere endotelială vasculară (VEGF), care susține angiogeneza în timpul creșterii tumorii și, de asemenea, activează calea de semnalizare NF- κ B care promovează carcinogeneza în continuare. Tumora este infiltrată de monocite, care se diferențiază în macrofage sub influența moleculelor de semnalizare secretate de tumoră. Așa-numitele „macrofage asociate tumorii” (TAM) sunt o clasă specială de celule imune care sunt prezente în număr mare în microambientul tumorii și sunt implicate semnificativ în reacțiile inflamatorii asociate tumorii.

Macrofagele, trombocitele și celulele stem mezenchimale (MSC) promovează transformarea mezenchimală epitelială a celulelor tumorale din focarul primar. Acest lucru le permite să se detașeze de celulele epiteliale adiacente și să dobândească un fenotip mobil și invaziv. În fluxul sanguin, trombocitele și componentele sistemului de coagulare asigură supraviețuirea celulelor tumorale, protejându-le de recunoașterea de către celulele imune citotoxice [6, 7]. Trombocitele activate promovează extravazarea celulelor tumorale și induc neoangiogeneza [8]. În plus, mediatori inflamatori precum interleukinele IL-1, IL-3 și IL-6

stimulează proliferarea megacariocitelor responsabile de producerea trombocitelor [6, 9]. La această noimă, se poate presupune că concentrația trombocitelor reflectă severitatea răspunsului inflamator sistemic indus de tumoare.

Indicatorii sângelui periferic ca predictor al cancerului endometrial

Un număr mare de observații clinice și studii de laborator au arătat că prezența neutrofilelor în tumori este adesea corelată cu un prognostic nefavorabil al evoluției bolii. Multe paciente cu cancer avansat au niveluri ridicate de neutrofile în sânge. Nu se cunoaște complet modul în care tumorile induc neutrofilia, dar sinteza factorului de stimulare a coloniilor granulocite-macrofage (GM-CSF) de către celulele tumorale poate fi unul dintre mecanismele de stimulare a producției de neutrofile de către măduva osoasă [19].

În plus, alte citokine, cum ar fi interleukinele IL-1 și IL-6, produse și de tumori, duc la creșterea numărului de neutrofile din sânge [7, 20].

Această neutrofilie este asociată cu un prognostic nefavorabil în mai multe tipuri de cancer, cum ar fi cancerul pulmonar, melanomul și carcinomul renal [33, 48, 69, 71, 128, 170].

În conformitate cu aceasta, prezența unui număr mare de neutrofile în anumite tipuri de tumori este, de asemenea, un indicator al unui prognostic nefavorabil. Deoarece neutrofilia din sânge este adesea asociată cu răspunsuri inflamatorii la infecții și leziuni tisulare, în focarul tumoral este una dintre dovezile conceptului de rol al inflamației în oncogeneză și progresia creșterii tumorale indusă de aceasta [107, 116, 119].

Mai mult, trebuie remarcat faptul că atât numărul de leucocite, cât și raportul formelor lor se schimbă. În consecință, nivelul de reactivitate celulară se modifică.

În ultimii ani, literatura străină a sesizat interes față de calcularea indicelui leucocitar, ca factor fezabil în prognosticul cancerului.

Se presupune că raportul dintre numărul de neutrofile din sânge și alte tipuri de leucocite servește ca factor de prognostic pentru pacientele cu cancer. De exemplu, raportul dintre neutrofile și limfocite (INL) a fost introdus ca factor de prognostic pentru pacienții cu cancer colorectal [144,167]. Acest indice reflectă raportul imunității umorale și celulare în tumorile maligne și este considerat un semn de prognostic independent în multe tumori, conform unei meta-analize a numeroaselor publicații.

Datorită simplității sale de detectare, INL s-a dovedit a fi un biomarker ușor accesibil și ieftin pentru multe tipuri de tumori, inclusiv cancerul pulmonar cu celule mici [150, 170], carcinomul hepatocelular [74], cancerul colorectal [60, 144, 145], melanomul [107, 116, 119, 123]

și cancerul mamar [47, 53, 63, 68, 84]. Ratele crescute ale INL-urilor se corelează cu supraviețuirea globală scăzută în cazul tumorilor solide [7].

Cel mai interesant este studiul din 2018 realizat de Orditura M. et al., scopul căruia a fost de a clarifica corelația dintre INL preoperatoriu și supraviețuirea la distanță fără metastaze (DMFS) la o serie de 300 de pacienți de rasă caucaziene cu cancer mamar precoc. În acest studiu, s-a demonstrat că INL s-a dovedit din nou un predictor fezabil al recurenței.

Cu toate acestea, practic nu există publicații dedicate calculului INL, precum și efectului acestuia asupra prognosticului bolii în caz de cancer endometrial.

1.5. Aspectul practic

Conform recomandărilor actuale ale ESMO, pentru managementul pacienților cu cancer endometrial, tactica de tratament este decelată de rezultatele stratificării riscului [13, 17, 18, 19].

În ceea ce privește CE, sunt descriși un număr mare de factori de prognostic, fapt care creează anumite dificultăți în aplicarea acestora în practica clinică.

Majoritatea factorilor sunt morfologici, iar informațiile despre aceștia sunt obținute în baza unui examen histologic standard. Datele respective sunt utilizate pentru a evalua riscul metastazelor în ganglionii limfatici, pentru a prognoza evoluția bolii la pacienții cu CE și pentru a planifica tratamentul postoperatoriu.

Studiul factorilor clinici, dar și a celor morfologici de prognostic al CE, în special, în stadiile incipiente a fost deja realizat de către alți autori [24, 33, 45]. Totuși, publicațiile axate pe analiza unei game largi de factori clinici și morfologici și pe markeri tumorali molecular-genetici, se întâlnesc rar.

Un interes deosebit îl prezintă studiul factorilor de risc în cazul unor variante individuale de evoluție a CE. Astfel de lucrări au fost deja publicate [99, 115, 124]. Însă, există puține exemple de utilizare a acestor date în practică [87].

Tratamentul CE, în special a stadiului I, care reprezintă 70-75% dintre pacienți, rămâne a fi un subiect de dezbatere [121].

Acest lucru este valabil și pentru efectuarea limfadenectomiei și radioterapiei adjuvante (RT). În ultimii 30 de ani, nu au încetat dezbaterile privind evaluarea stării ganglionilor limfatici regionali în stadiul I al CE. Acest lucru se explică prin faptul că clasificarea stadiilor chirurgicale ale CE în 1988, propusă de Federația Internațională a Obstetricienilor și Ginecologilor (FIGO) nu a determinat tactica de tratament în dependența de stadiul bolii. Aceasta ar fi una dintre cele mai importante probleme în domeniul oncoginecologiei moderne, care se caracterizează printr-o

stratificare a opiniilor specialiștilor: de la negarea totală a necesității limfadenectomiei până la efectuarea limfadenectomiei pelviene și lombare, practic, în cazul tuturor pacientelor.

La stabilirea grupului de risc, se ia 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 [46, 61]. Volumul intervenției chirurgicale și terapia postoperatorie sunt stabilite în funcție de situația clinică. Astfel, determinarea corectă a gradului de diferențiere și a tipului de tumoare reprezintă un aspect fundamental în elaborarea unui plan individual de tratament.

Totuși, conform unui studiu realizat de TCGA (2013), 1/4 dintre tumorile clasificate drept carcinoame endometriale G3, corespund, după profilul molecular, unui subgrup de tumori de tipul celor seroase [97]. În același timp, un alt grup de cercetători condus de McConechy M. [45] a analizat 3 cazuri de tumori, definite histologic drept seroase, care au suferit mutații *PTEN* și *ARID1A* în absența mutațiilor *TP53* [117]. La reexaminarea histopatologică, toate cele 3 tumori au fost identificate ca fiind mixte. În plus, a fost efectuată o analiză imunohistochimică, care a contestat existența unui profil seros al tumorilor în legătură cu expresia normală *p53* și în absența expresiei *p16*. De asemenea, la una dintre tumori a fost identificată expresia receptorilor la estrogen și progesteron [168].

Potrivit cercetătorilor, acest fapt sugerează că clasificarea cancerului endometrial nu mai poate reieși dintr-un model dualist.

În special, tumorile cu grad scăzut de diferențiere au o eterogenitate pronunțată, care nu este reflectată în clasificarea acceptată, în timp ce profilul mutației tumorilor cu grad înalt de diferențiere și a celor seroase variază semnificativ.

Majoritatea tumorilor seroase prezintă mutații la nivelul genei *TP53*; 1/3 din tumorile „ultramutante”, de asemenea, le pot avea, totuși, prognosticul clinic este diferit. Prin urmare, atunci când se utilizează analiza imunohistochimică pentru a confirma diagnosticul de carcinom seros, pot fi utilizate determinarea *p53* și panelul auxiliar de parametri imunohistochimici, cum ar fi *PTEN* și *ARID1A*, pentru diferențierea carcinomului seros de tumoarea endometrioidă cu mutația genei *POLE* [70, 78, 79, 107, 113, 123, 152, 190].

În perspectivă, clasificarea moleculară a tumorilor endometriale poate deveni un element indispensabil al clasificării histopatologice, care ar contribui la determinarea prognosticului bolii și a tacticii de tratament, la dezvoltarea unei noi terapii țintite, precum și la introducerea testelor de diagnosticare moleculară pentru depistarea cancerului endometrial în stadiile precoce, când prognosticul este mult mai favorabil.

În pofida numărului mare de cercetări realizate atât de către autorii autohtoni, cât și de cei străini, care s-au axat pe studiul aspectelor biologice și moleculare ale cancerului endometrial, în prezent niciunul dintre markerii tumorali nu sunt recomandați pentru o utilizare clinică pe scară largă în cancerul de corp uterin, deoarece nu există suficiente informații pentru introducerea acestora în practica clinică.

1.6. Concluzii la capitolul 1

1. Problema privind criteriile de prognostic în cazul cancerului endometrial rămâne a fi neabordată [124, 131, 154]. Ca urmare a analizei grupurilor de risc, este necesar de a stabili un model propriu de prognostic, extins datorită integrării unor caracteristici clinice și morfologice suplimentare ale tumorii.

2. Este necesară elaborarea unei abordări unice privind evaluarea evoluției bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II prin luarea în considerare a factorilor de prognostic, asigurând rezultate satisfăcătoare și o înaltă calitate a vieții.

3. Cercetarea detaliată a acestei probleme ne va permite să optimizăm diagnosticul cancerului endometrial nu numai în conformitate cu stratificarea grupurilor de risc, dar și în baza caracteristicilor molecular-genetice ale celor două variante de CE.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica materialului clinic

Studiul reprezintă o analiză complexă, structurală, de cohortă și prospectivă, a datelor clinice, anamnestice, imuno-genetice și histopatologice a 269 paciente cu CE în stadiile I și II.

În conformitate cu obiectivele stabilite, a fost efectuată o examinare cuprinzătoare a pacientelor cu cancer endometrial care au solicitat o programare consultativă și au fost spitalizate în secția Ginecologie a IMSP Institutul Oncologic. Proiectul studiului este prezentat în figura 2.2.

Pe parcursul studiului prezentat sunt expuse cazuri clinice

2.2. Caracteristica generală a cercetării

Toate pacientele au fost supuse examinării conform fișei, incluzând o evaluare a stării somatice, antropometrice și ginecologice generale, a analizei patologiei concomitente și a bolilor extragenitale, a patologiei ereditare.

Lotul general de studiu a inclus 269 de paciente cu CE în stadiile I-II, vârsta medie $59,9 \pm 0,64$ ani (Figura 2.1).

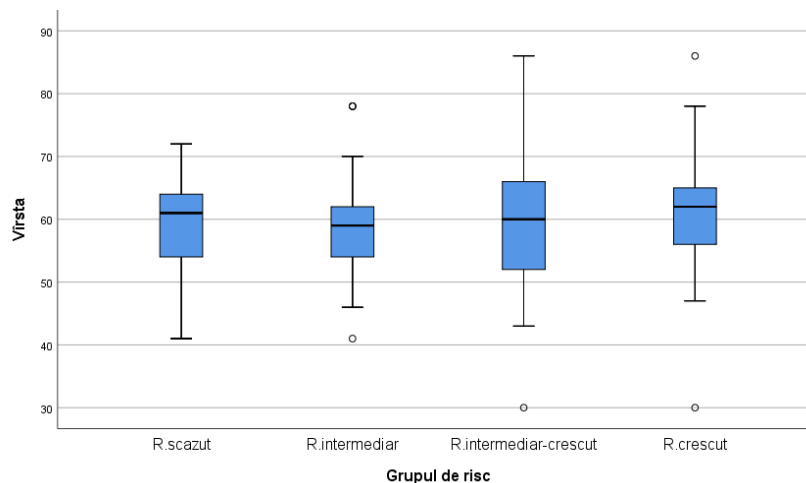


Fig. 2.1. Vârsta pacientelor incluse în studiu în funcție de grupul de risc, ani

Pentru a verifica starea morfologică a endometrului, în prima etapă, a fost efectuat un chiuretaj de diagnostic fracționat cu examenul histopatologic ulterior ale specimenelor.

Diagnosticul a fost confirmat histologic, stadializarea a fost efectuată în baza clasificării CE conform TNM (a 8-a ediție) și clasificării FIGO din 2009 [1], în baza examenului clinic și celui paraclinic (analiza generală și biochimică a sângelui, analiza generală a urinei,

ultrasonografia organelor abdominale și a pelvisului, roentgenografia cutiei toracice, la indicații s-a efectuat scintigrafia osoasă).

Investigațiile molecular-genetice au fost efectuate în cadrul Laboratorului Imunologie și Genetică Moleculară al IMSP IO.

Toate pacientele incluse în cercetare au participat benevol, exprimându-și acordul de participare prin completarea acordului informat.

Diagnosticul și tratamentul pacientelor cu CE a corespuns algoritmilor recomandați pentru sfera diagnosticului și a tratamentului neoplasmelor maligne din Protocolul Național de CE aprobat de Ministerul Sănătății 2020 [110].

Estimarea extinderii procesului tumoral s-a realizat în conformitate cu sistemul TNM, elaborat de OMS, ediția a VII-a din anul 2009. În conformitate cu sistemul TNM s-a stabilit și stadiul procesului tumoral.

Tabelul 2.1. Stadializare TNM, revizuirea FIGO 2009

Stadiul	Descriere
Stadiul I	Tumora este limitată la corpul uterului
IA	Nici o invazie sau invazia mai puțin de jumătate din grosimea miometrului
IB	Invazie egală sau mai mare de jumătate din grosimea miometrului
Stadiul II	Tumora implică stroma cervicală, dar nu se răspândește în afara uterului
Stadiul III	Răspândirea locală sau regională a tumorii
IIIA	Tumora invadează mucoasa seroasă a uterului și/sau a anexelor
IIIB	Implicarea vaginală și/sau parametreei
IIIC	Metastaze ganglionare pelviene și para-aortice
IIIC1	Metastaze ale ganglionilor limfatici pelvieni
IIIC2	Metastaze ale ganglionilor limfatici para-aortici
Stadiul IV	Tumora invadează vezica și/sau mucoasa intestinală sau metastazele îndepărtate
IVA	Tumora invadează vezica și/sau mucoasa intestinală
IVB	Metastaze la distanță, inclusiv metastaze în abdomen și ganglioni limfatici inghinali

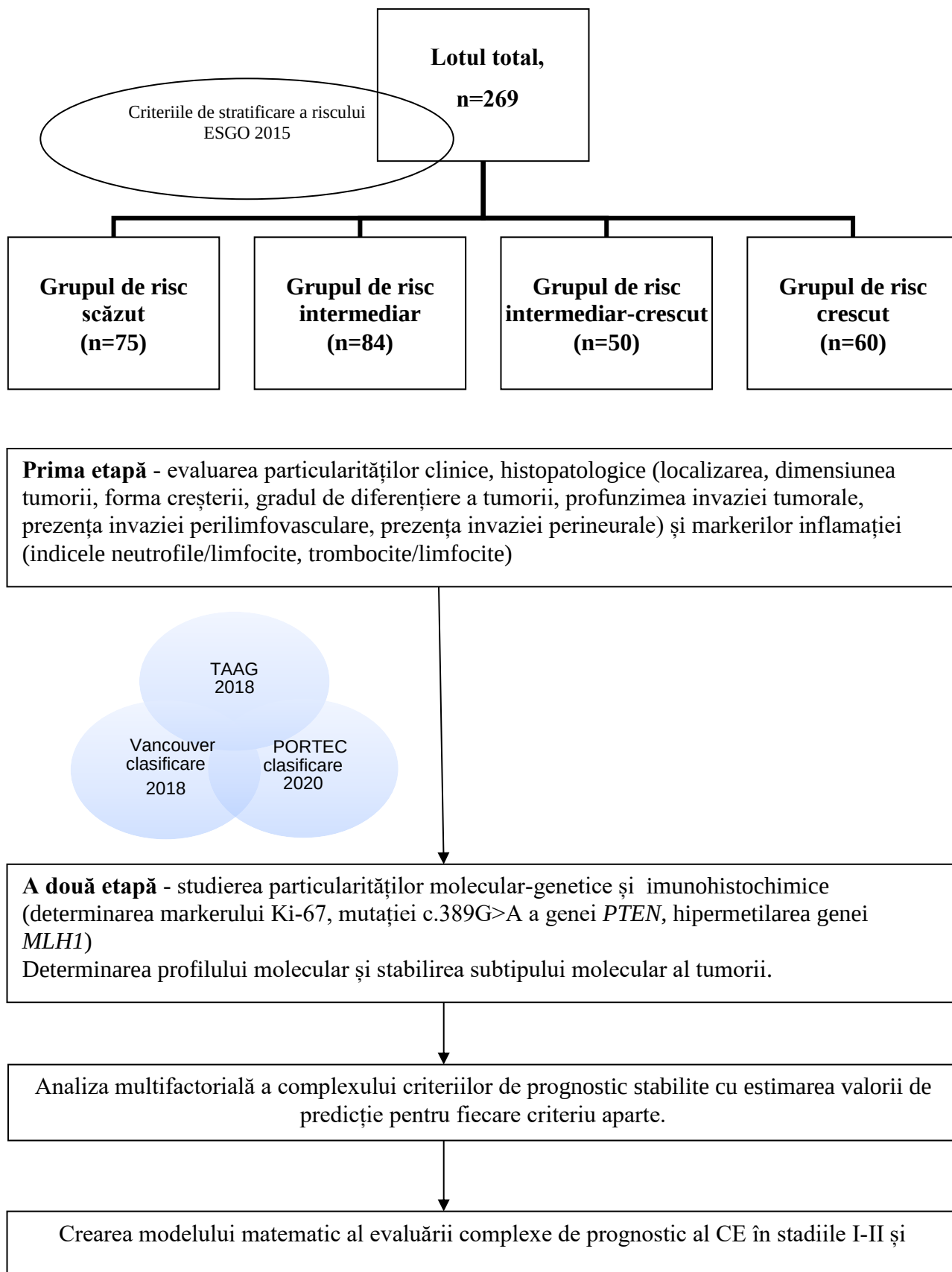


Fig. 2.2. Schema generală a proiectului de cercetare

Pacientele din lotul total de studiu au fost divizate în 4 grupuri, în dependență de riscul apariției recurenței.

Conform noilor criterii și recomandări modificate ale ESGO (2015), criteriile de stratificare a pacientelor în grupuri de risc au fost: stadiul bolii, gradul de diferențiere a tumorii, profunzimea invaziei tumorale, prezența invaziei perilimfovaskulare [17] (Tabelul 2.2.).

Tabelul 2.2. Grupuri de risc pentru afectarea ganglionilor limfatici și metastaze la distanță (consens ESGO, ESMO, ESTRO, 2016)

Grupul de risc	Descriere
Scăzut	Cancer endometrial, stadiul IA, G1-2, fără invazie a spațiului perilimfovaskular
Intermediar	Cancer endometrial, stadiul IB, G1-2, fără emboli tumorali în vasele limfatice
Intermediar-crescut	Cancer endometrial
	stadiul IA, G3
	stadiul IA și IB, G1-2, emboli tumorali în vasele limfatice
Crescut	Cancer endometrial, stadiul IB, G3
	Cancer endometrial, stadiul II
	Cancer endometrial, stadiul III, fără tumoră reziduală
	Cancer non-endometrial în orice stadiu

Cea mai mare parte a controversei este legată de definirea criteriilor de risc intermediar. Pacientele cu cancer endometrial în stadiul IA de grad scăzut de diferențiere și cancer endometrial în stadiul IB de grad înalt și moderat de diferențiere au fost încadrați în grupul de risc intermediar. În același timp, acest grup s-a dovedit a fi foarte eterogen în funcție de factori de risc suplimentari, care au necesitat identificarea unui subgrup de risc intermediar-crescut.

Criteriile subgrupului de risc intermediar crescut au fost definite de Keys H et al. în cadrul studiului randomizat al Gynecologic Oncology Group (GOG) în 2004 [64].

Astfel, pacientele din lotul total de studiu au fost împărțite în 4 grupuri de risc:

1. Grupul 1 - 75 de paciente cu CE de risc scăzut,
2. Grupul 2 - 84 de paciente cu CE de risc intermediar,
3. Grupul 3 - 50 de paciente cu CE de risc intermediar-crescut,
4. Grupul 4 - 60 paciente cu CE de risc crescut.

La formarea grupurilor, pacientele cu cancer diagnosticat de altă localizare au fost excluse din studiu.

Criteriile de includere în cercetare

- Diagnosticul de CE în stadiile I-II, confirmat histopatologic
- Obținerea acordului informat al pacientului

Criteriile de excludere din cercetare

- Patologie asociată cronică gravă
- Prezența stărilor critice
- Prezența maladiilor psihice
- Diagnosticul confirmat de CE în stadiul III și IV
- Refuzul pacientei de a participa la studiu

La repartizarea femeilor pe grupuri de vârstă, s-a obținut (Tabelul 2.3.): vârsta de 30-39 de ani a fost observată la persoanele din grupurile de risc crescut și intermediar-crescut mai des de 0,7% dintre cazuri, comparativ cu pacientei cu CE din grupul de risc intermediar și scăzut, în care nu a fost raportat niciun caz de CE.

Debutul bolii la vârsta de 50-59 de ani a fost observat mai des în grupul de risc intermediar la 44,0% dintre cazuri decât la pacientele din grupul de risc crescut - 33,3% ($p < 0,05$). Vârsta de 60-69 de ani s-a constatat mai mult în grupul de risc scăzut în 49,3% din cazuri decât la pacientele din grupul de risc crescut - 48,3% ($p < 0,05$). Vârsta medie a pacientelor cu CE în stadiile I-II a fost de $56,9 \pm 0,6$ ani.

Tabelul 2.3. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și vârstă

Parametrul statistic	Grupul de risc				Total
	Scăzut	Intermediar	Intermediar-crescut	Crescut	
Media	59,2	58,6	60,6	61,0	59,9
Mediana	61,0	59,0	60,0	62,0	60,0
Deviația standard	7,0	8,0	10,0	8,7	8,6
IIQ	10	8	14	10	11

În legătură cu scopul și obiectivele studiului, în conformitate cu definiția OMS (1990), completată de Societatea Internațională pentru Studiul Menopauzei (1999), fiecare grup a inclus paciente aflate în perioadele reproductivă, perimenopauzală și postmenopauzală [82, 115, 120].

Proporția pacientelor cu perioade de vârstă diferite, luând în considerație grupurile de risc este prezentată în tabelul 2.4.

Tabelul 2.4. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în diferite perioade de vârstă în funcție de grupul de risc

Grupul de risc	Numărul pacientelor (n)	%	ÎI 95%
Risc scăzut			
- perioadă reproductivă	8	10,7	3,7-17,7
- perioadă perimenopauzală	3	4,0	-0,4-8,4
- perioadă postmenopauzală	64	85,3	77,3-93,3
Risc intermediar			
- perioadă reproductivă	6	12,0	4,6-19,4
- perioadă perimenopauzală	2	4,0	-0,4-8,4
- perioadă postmenopauzală	42	84,0	75,7-92,3
Risc intermediar-crescut			
- perioadă reproductivă	6	7,1	1,3-12,9
- perioadă perimenopauzală	8	9,5	2,9-16,1
- perioadă postmenopauzală	70	83,3	74,9-91,7
Risc crescut			
- perioadă reproductivă	3	5,0	0,1-9,9
- perioadă perimenopauzală	4	6,7	1,0-12,4
- perioadă postmenopauzală	53	88,3	81,0-95,6

Majoritatea cazurilor de cancer endometrial au fost diagnosticate la pacientele din toate grupurile de risc aflate în perioada postmenopauzală.

În grupul de risc scăzut majoritatea cazurilor (85,3%) de cancer endometrial au fost depistate la pacientele în perioada postmenopauzală, și cu o frecvență relativ mică au fost diagnosticate în perioada reproductivă (10,7%). Rata cea mai înaltă a CE la pacientele din grupul de risc crescut a fost înregistrat în perioadă postmenopauzală și cu o frecvență relativ joasă a fost diagnosticat și în perioadă perimenopauzală și reproductivă (4,0% și 10,7%, respectiv). Rata cea mai înaltă a debutului bolii în perioadă reproductivă s-a înregistrat în grupul de risc scăzut (10,7%), comparativ cu grupul de risc crescut (5,0%).

Analiza perioadelor de vârstă a pacientelor examinate a arătat că grupurile de paciente cu CE în stadiile I-II au inclus pacientele în perioadă postmenopauzală (85,1%), respectiv 6,4% au fost în perimenopauză, în timp ce în perioada reproductivă au fost 8,5% bolnave.

Vârsta medie de debut al bolii la pacientele cu CE în perioadă reproductivă din grupul de risc crescut a constituit $41,7 \pm 5,84$ ani, comparativ cu datele din grupul de risc intermediar și crescut, respectiv, $45,5 \pm 0,96$ ani și $45,9 \pm 1,08$ ani. Astfel, vârsta medie a pacientelor cu CE în perioada perimenopauzală din grupul de risc crescut a constituit $50,0 \pm 0,58$ ani, comparativ cu datele din grupul de risc intermediar și crescut, respectiv, $50,0 \pm 0,0$ ani și $51,3 \pm 0,67$ ani. Vârsta medie de debut al bolii la pacientele cu CE în perioada postmenopauzală din grupul de risc crescut a constituit $62,9 \pm 0,95$ ani, comparativ cu datele din grupul de risc intermediar și crescut, respectiv, $60,8 \pm 1,0$ ani și $61,2 \pm 0,65$ ani.

Deosebiri de vârstă, la care se instalează boala, sunt condiționate, probabil, de factorii genetici. Astfel, cercetarea molecular-genetică la pacientele cu cancer endometrial aflate în vârstă reproductivă dă posibilitatea de a determina subtipul molecular al tumorii. Acest fapt trebuie luat în considerare în evaluare evoluției cancerului endometrial și gradului de agresivitate al tumorii.

Stadiul bolii a fost specificat reieșind din datele studiilor clinice și morfologice în conformitate cu clasificările internaționale FIGO (2009) și TNM (ediție 8) [1, 170]. Repartizarea pacientelor cu CE în funcție de stadiul bolii, tipul histologic și gradul de diferențiere este prezentată în tabelul 2.5.

Tabelul 2.5. Corelarea stadiului bolii, tipului histologic și gradului de diferențiere a tumorilor la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Parametrii	Grupul de risc							
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut	
	Abs.	%, [Î 95%]	Abs.	%, [Î 95%]	Abs.	%, [Î 95%]	Abs.	%, [Î 95%]
Stadiul bolii								
I A	50	66,7 [56,0-77,3]	20	40,0 [26,4-53,6]	19	22,6 [13,7-31,6]	14	23,3 [12,6-34,0]
I B	13	17,3 [8,8-25,9]	22	44,0 [30,2-57,8]	47	56,0 [45,3-66,6]	28	46,7 [34,0-59,3]
II	12	16,0 [7,7-24,3]	7	14,0 [4,4-23,6]	17	20,2 [11,6-28,8]	18	30,0 [18,4-41,6]
Tipul histologic								
Endometrial	56	74,7 [64,8-84,5]	40	80 [70,9-89,1]	58	69,0 [58,6-79,5]	42	70,0 [59,6-80,4]
Non-endometrial	19	25,3 [15,5-35,2]	10	20 [10,9-29,1]	26	31,0 [20,5-41,4]	18	30,0 [19,6-40,4]
Gradul de diferențiere								
Înalt	60	80,0 [70,9-89,1]	26	52,0 [38,2-65,8]	22	26,2 [16,8-35,6]	2	3,3 [0,0-7,9]
Moderat	12	16,0 [7,7-24,3]	22	44,0 [30,2-57,8]	48	57,1 [46,6-67,7]	1	1,7 [0,0-4,9]
Scăzut	-	-	-	-	12	14,3 [6,8-21,8]	59	98,3 [95,1-101,6]

Analiza particularităților procesului tumoral, a relevat că din numărul total de paciente examinate, în stadiul I s-au aflat 103 (79,2%; Î 95% [74,3-84,0]) paciente, stadiul II a fost diagnosticat la 54 (20,1%; Î 95% [15,3-24,9]) paciente.

Studierea subtipului histologic, a depistat următoarele: adenocarcinom endometroid a fost diagnosticat la 196 (72,9%; ÎÎ 95% [67,5-78,2]) paciente, non-endometroid – la 73 (27,1%; ÎÎ 95% [21,8-32,5]) paciente. Rata cea mai înaltă a tipului histologic non-endometroid a fost înregistrată în grupurile pacientelor de risc crescut și intermediar-crescut, respectiv, 26% și 18%.

Studierea gradului de diferențiere tumorală a relevat, că la 110 (40,9%; ÎÎ 95% [35,0-46,8]) paciente a fost diagnosticat un grad moderat de diferențiere, în timp ce gradul de diferențiere înaltă și scăzută a CE în stadiile I-II a fost determinat la 83 (30,9%; ÎÎ 95% [25,3-36,4]) și, respectiv, 71 (26,4%; ÎÎ 95% [21,1-31,7]) paciente.

Toate pacientele cu CE din lotul total de studiu au fost distribuite în 4 grupuri în funcție de grupul de risc de recurență.

Grupul de paciente de risc scăzut a inclus 75 paciente.

Caracteristicile clinice ale pacientelor din acest grup sunt prezentate în tabelul 2.6.

Vârsta pacientelor din grupul de risc scăzut a variat între 41 și 72 de ani și a constituit în medie $59,2 \pm 0,81$ (ÎÎ 95% [57,5-60,8]) ani.

Adenocarcinomul endometrial de grad înalt de diferențiere a fost prezent la 60 (80,0%; ÎÎ 95% [70,0-88,2]) paciente, adenocarcinomul endometrial de grad moderat de diferențiere a fost diagnosticat la 12 (16,0%; ÎÎ 95% [8,1-25,0]) paciente. Adenocarcinomul non-endometrial a fost identificat la 5 (6,7%; ÎÎ 95% [1,5-12,8]) paciente. Vârsta medie a acestor paciente a fost de $56,4 \pm 1,75$ de ani.

La momentul studiului, 8 (10,7%; ÎÎ 95% [3,7-17,7]) paciente erau în perioada reproductivă, 64 (85,3%; ÎÎ 95% [77,3-93,3]) paciente din acest grup erau în perioadă postmenopauzală.

Vârsta instalării menopauzei în acest grup a fost de $50,3 \pm 0,38$ (ÎÎ 95% [49,6-51,0]) de ani. Durata postmenopauzei a variat de la 1 an la 40 de ani, cu valoarea medie de $11,1 \pm 1,0$; [ÎÎ 95% 9,0-13,1] ani în majoritatea cazurilor, la 46 (76,7%; ÎÎ 95% [67,1-86,3]) paciente fiind mai mult de 5 ani. Au fost 4 (6,7%; ÎÎ 95% [1,0-12,4]) paciente în perioada perimenopauzală; durata perimenopauzei a variat de la 12 luni până la 3 ani.

Tabelul 2.6. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc scăzut

	Media	Mediana	Deviația standard	IIQ
Durata bolii prezente, ani	1,0	1	0,2	0
Vârsta menarhe, ani	13,6	14	1,5	3
Durata ciclului menstrual, ani	27,3	27	5,2	11
Debutul vieții sexuale, ani	20,9	21	3,6	7
Durata postmenopauzei, ani	4,8	5	4,3	8
Durata menopauzei, ani	8,8	10	5,8	10
Durata perimenopauzei, ani	4,0	5	2,0	1
Debutul menopauzei, ani	50,4	51	3,2	3
Sarcini	3,8	4	1,9	3
Nașteri	2,3	2	1,4	2
Avorturi	0,7	0	1,0	1

Tulburări ale ciclului ovarian-menstrual au fost diagnosticate la 24 (40,0%; ÎI 95% [27,6-52,4]) paciente. Analizând particularitățile funcției reproductive la pacientele lotului de studiu am obținut următoarele date: neregularități menstruale au fost diagnosticate la 14 (16,7%; ÎI 95% [8,7-24,6]) paciente din acest grup, polimenoree – la 30 (35,7%; ÎI 95% [26,1-46,0]) paciente, hipermenoree – la 36 (42,9%; ÎI 95% [32,9-53,3]) paciente, proiomenoreea – la 6 (7,1%; ÎI 95% [2,4-13,3]) paciente. Durata neregulilor menstruale a variat de la 40 de zile la 5 ani și a avut în medie $1,8 \pm 0,7$ ani. Numărul de chiuretaje diagnostice efectuate anterior a variat de la 0 la 3; absența chiuretajului - 43 (57,3%; ÎI 95% [46,1-68,5]) cazuri, mai mult de 2 - la 9 (12,0%; ÎI 95% [4, 6-19,4]) paciente.

În anamneza ginecologică 11 (14,7%; ÎI 95% [6,7-22,7]) paciente au avut fibroame uterine, 11 (14,7%; ÎI 95% [6,7-22,7]) paciente - adenomioză, 9 (12,0%; ÎI 95% [4,6- 19,4]) paciente au avut un istoric de anexită cronică.

Tabelul 2.7. Repartizarea pacientelor cu CE din grupul de risc scăzut în funcție de prezența bolilor organelor sistemului reproductiv

Patologiile organelor sistemului reproductiv	Abs.	%	ÎI 95%
Mastopatia fibrochistică	23	30,7	20,8-41,1
Ectropion a colului uterin	7	9,3	3,1-17,1
Boala inflamatorie pelvină	9	12,0	5,1-20,3
Polipii corpului uterului	4	5,3	1,1-11,3
Polipii canalului cervical	28	37,3	26,1-48,5
Hiperplazia endometrială	39	52,0	40,0-63,4
Endometrioza	11	14,7	7,4-23,1
Miomul corpului uterului	11	14,7	7,1-22,9
Chist ovarian	20	26,7	16,7-37,3
Leucoplazie și krauroza vulvei	4	5,3	1,1-11,3

Astfel, s-a constatat că pacientele cu CE din grupul de risc scăzut se caracterizează prin debut normal al menopauzei, un număr mare de sarcini. S-a observat, de asemenea, o creștere a duratei bolii (ani) cu un număr suficient de mic de chiuretaje diagnostice în anamneză și prezența rară a diferitelor tulburări ale ciclului ovarian-menstrual.

Grupul de paciente cu CE de risc intermediar a inclus 84 de paciente.

Caracteristicile clinice ale pacientelor din acest grup sunt prezentate în Tabelul 2.8. Vârsta pacientelor din acest grup a variat între 41 și 78 de ani și a constituit în medie $58,6 \pm 1,13$ (Î 95% [56,3-60,8]) ani. La momentul studiului, 6 (12,0; Î 95% [4,6-19,4]) paciente se aflau în perioada de reproducere, 42 (84,0%; Î 95% [75,7-92,3]) paciente din acest grup erau în perioada postmenopauzală. Vârsta menopauzei în acest subgrup a fost de $50,9 \pm 0,36$ (Î 95% [50,2-51,6]) ani. Durata postmenopauzei a variat de la 1 an la 23 de ani, la 26 (52,0%; Î 95% [40,7-63,3]) de paciente - mai mult de 5 ani. În perioada perimenopauzei au fost 2 (4,0%; Î 95% [0,0-8,4]) paciente, durata perimenopauzei a variat de la 1 lună până la 5 ani. La majoritatea pacientelor, funcțiile sistemului reproductiv nu au fost afectate înainte de stabilirea diagnosticului de hiperplazia endometrială. La 94% dintre paciente vârsta menarhei a fost de 12-15 ani. O treime a celor chestionate a avut o viață sexuală regulată. Vârsta medie la debutul activității sexuale a fost de $20,6 \pm 0,55$ (Î 95% [19,6-21,7]) ani. Durata ciclului menstrual la toate pacientele a variat între 21-30 de zile și în medie a constituit $26,7 \pm 0,67$ (Î 95% [25,3-27,9]) zile. Sarcina a fost prezentă la 49 (98,0%; Î 95% [94,1-101,9]) paciente, toate au avut și nașteri. La 19 (38,0%; Î 95% [24,5-51,5]) paciente, sarcina s-a încheiat cu avort spontan. Numărul de chiuretaje diagnostice efectuate anterior a variat de la 0 la 4 (niciun chiuretaj nu au avut 17 (34,0; Î 95% [23,3-44,7] paciente), mai mult de 2 - 8 (16,0; Î 95% [7,7- 24,3]) paciente.

Tabelul 2.8. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc intermediar

	Media	Mediana	Deviația standard	IIQ
Durata bolii prezente, ani	1,1	1	0,4	0
Vârsta menarhe, ani	13,1	13	1,6	3
Durata ciclului menstrual, ani	26,6	26	4,7	8
Debutul vieții sexuale, ani	20,5	21	3,9	9
Durata postmenopauzei, ani	3,7	2	5,5	5
Durata menopauzei, ani	7,6	7	7,1	7
Durata perimenopauzei, ani	3,9	5	2,6	2
Debutul menopauzei, ani	50,3	52	2,5	13
Sarcini	3,7	3	1,9	3
Nașteri	1,9	2	1,2	1
Avorturi	1,3	1	1,3	2

Rezultatul examenului histopatologic a raclajului uterin la pacientele din acest grup a arătat că 2 (4,0; Î 95% [0,0-9,4]) paciente cu CE au avut hiperplazie glandulară atipică în anamneză, 23 (46,0; Î 95% [32,2 -59,8]) paciente - hiperplazie endometrială, 22 (44,0; Î 95% [30,2-57,7]) paciente - polipoză endometrială (glandulară, fibroasă, fibroasă glandulară).

Patologii ginecologice care sunt asociate cu patologia endometrială precum bolile inflamatorii au avut 3 (6,0; Î 95% [0,0-12,6]) paciente, 17 (28,3%) paciente au avut diatermocoagulare a colului uterin pentru eroziune, antecedente de miom uterin au avut 12 (24,0; Î 95% [12,2-35,8]) paciente, 2 (4,0; Î 95% [0,0-9,4]) paciente au avut adenomioză. Fiecare a două pacienți a avut în anamneza chiuretaj diagnostic al endometrului.

Tabelul 2.9. Repartizarea pacientelor cu EC din grupul de risc moderat în funcție de prezența bolilor sistemului reproductiv

Maladiile organelor sistemului reproductiv	Abs.	%	Î 95%
Mastopatia fibrochistică	23	46,0	31,9-81,2
Ectropion a colului uterin	10	20,0	9,5-31,8
Boala inflamatorie pelvină	3	6,0	0,0-13,5
Polipii corpului uterului	7	14,0	5,4-24,1
Polipii canalului cervical	22	44,0	30,2-59,5
Hiperplazia endometrială	23	46,0	31,9-60,9
Endometrioza	2	4,0	0,0-10,2
Miomul corpului uterului	12	24,0	12,0-37,2
Chist ovarian	7	14,0	4,9-24,0
Leucoplazie și krauroza vulvei	1	2,0	0,0-6,4

Astfel, la pacientele din grupul de risc moderat comparativ cu cele din grupul de risc crescut, au fost relevate următoarele: un ciclu menstrual mai scurt și o vârstă medie respectivă la menopauză. Au fost relevate modificări ale structurii parității ginecologice: un număr mai mare de sarcini și un număr semnificativ mai mare de nașteri. Proporția patologiei extragenitale este mai mică decât la pacientele din grupurile de risc crescut și intermediar-crescut.

Grupul de paciente cu CE de risc intermediar-crescut a inclus 50 de paciente.

Evaluând vârsta pacientelor din acest grup de studiu au fost constatate următoarele: aceasta a variat între 30 și 86 de ani și a constituit în medie 60,6±1,10 (Î 95% [58,4-62,8]) ani.

Analizând particularitățile funcției reproductive la pacientele lotului de studiu am obținut următoarele date: neregularități menstruale au fost observate la 14 (16,7%; Î 95% [8,7-24,6]) paciente din acest grup, polimenoree – la 30 (35,7%; Î 95% [26,1-46,0]) paciente, hipermenoree – la 36 (42,9%; Î 95% [32,9-53,3]) paciente, proiomenoree – la 6 (7,1%; Î 95% [2,4-13,3]) paciente. S-a constatat că toate pacientele cu hiperplazie endometrială aveau anovulație cronică și diferite tulburări menstruale.

La momentul studiului 6 (7,1%; ÎI 95% [1,3-12,9]) paciente erau în perioada reproductivă, 70 (83,3%; ÎI 95% [74,9-91,7]) paciente din acest grup erau în postmenopauză. Vârsta menopauzei în acest subgrup a fost de 49,7±0,45 (ÎI 95% [48,8-50,5]) ani. Durata postmenopauzei - 10,9±1,01 (ÎI 95% [48,8-50,5]) ani a fost înregistrată la 62 (73,8%; ÎI 95% [61,2-81,6]) de paciente. În perioada perimenopauzei au fost 8 (9,5%; ÎI 95% [2,9-16,1]) paciente, durata perimenopauzei a variat de la o lună până la 13 ani.

Adenocarcinomul înalt diferențiat a fost diagnosticat la 22 (26,2%; ÎI 95% [16,8-35,6]) paciente, moderat diferențiat la 48 (57,1%; ÎI 95% [46,6-67,7]) paciente. Adenocarcinomul slab diferențiat a fost observat la 12 (14,3%; ÎI 95% [6,8-21,8]) paciente.

Caracteristicile clinice ale pacientelor din grupul de risc mediu-ridicat sunt prezentate în tabelul 2.10.

Tabelul 2.10. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc intermediar-crescut

	Media	Mediana	Deviația standard	IIQ
Durata bolii prezente, ani	1,1	1	0,3	0
Vârsta menarhe, ani	13,1	13	1,5	2
Durata ciclului menstrual, ani	27,6	28	5	11
Debutul vieții sexuale, ani	21,3	21	3,7	7
Durata postmenopauzei, ani	6,9	5	8,1	10
Durata menopauzei, ani	10,9	10	9,2	13
Durata perimenopauzei, ani	3,9	5	2,2	3
Debutul menopauzei, ani	49,7	51	4	3
Sarcini	4,2	3	2,8	4
Nașteri	2,5	2	1,7	1
Avorturi	1,0	1	1,1	1

Cel mai des, aceste paciente au avut dereglări ale ciclului ovarian-menstrual de tipul hipermenoreei - 36 (5,4%; ÎI 95% [32,3-53,4]) cazuri. Numărul chiuretajelor efectuate anterior a variat de la 1 la 4 (mai mult de 2 chiuretaje - 10 (19,0%; ÎI 95% [3,7-17,7]) paciente).

Analiza datelor anamnestice a relevat faptul că 6 (7,1%; ÎI 95% [1,6-12,7]) paciente sufereau de boli inflamatorii ale organelor genitale feminine. Fibromul uterin a fost diagnosticat la 28 (33,3%; ÎI 95% [23,3-43,4]) paciente, adenomioza la 24 (28,6%; ÎI 95% [18,9-38,2]) paciente. Miomectomia conservativă a fost efectuată la 4 (6,45%) paciente. Interesant este absența patologiei colului uterin la acest grup de paciente. Repartizarea pacientelor cu CE din grupul de risc intermediar-crescut în funcție de prezența patologiei sistemului reproductiv este prezentată în tabelul 2.11.

Tabelul 2.11. Repartizarea pacientelor cu CE din grupul de risc intermediar-crescut în funcție de prezența bolilor organelor sistemului reproductiv

Patologiile organelor sistemului reproductiv	Abs.	RR	IÎ 95%
Mastopatia fibrochistică	33	39,3	29,3-50,0
Ectropion a colului uterin	10	11,9	5,4-19,5
Boala inflamatorie pelvină	6	7,1	2,4-13,3
Polipii corpului uterului	12	14,3	7,1-22,1
Polipii canalului cervical	2	2,4	0,0-6,0
Hiperplazia endometrială	36	42,9	31,9-54,2
Endometrioza	24	28,6	18,8-38,2
Miomul corpului uterului	28	33,3	23,4-44,1
Chist ovarian	13	15,5	8,4-23,5
Leucoplazie și krauroza vulvei	4	4,8	1,1-9,6

Rezultatul examenului histopatologic al raclajului cavității uterine a arătat că 9 (10,7%; IÎ 95% [4,1-17,3]) paciente cu CE au avut hiperplazie glandulară atipică, 36 (42,9%; IÎ 95% [32,3-53,4]) paciente - hiperplazie endometrială, 12 (14,3%; IÎ 95% [6,8-21,8]) paciente - polipoză endometrială (glandulară, fibroasă, glandular-fibroasă).

Astfel, pacientele din grupul de risc intermediar-crescut, au avut un ciclu menstrual mai scurt, un număr mai mare de sarcini și diferite dereglări ale ciclului ovarian-menstrual, durata patologiilor ginecologice a fost în medie 2 ani, și s-a observat, de asemenea, o proporție crescută de patologie concomitentă comparativ cu grupul de risc scăzut.

Grupul de paciente cu CE de risc crescut a inclus 60 de paciente.

Vârsta pacientelor din acest subgrup a variat între 41 și 72 de ani și a constituit în medie 59,2±0,81 (IÎ 95% [57,5-60,8]) ani.

La momentul studiului, 8 (10,7%; IÎ 95% [3,7-17,7]) paciente se aflau în perioada reproductivă, 52 (85,3%; IÎ 95% [77,3-93,3]) paciente în acest grup a fost în perioada postmenopauză. Durata postmenopauzei a variat de la 2 la 15 de ani, în majoritatea cazurilor - mai mult de 5 ani. În perioada perimenopauzei s-au aflat 3 (4,0%; IÎ 95% [0,0-8,4]) paciente, durata perimenopauzei a variat de la 6 luni până la un an.

Adenocarcinomul înalt diferențiat a fost stabilit la 4 (5,88%; IÎ 95% [2,8-8,6]) paciente, moderat diferențiat la 44 (57,1%; IÎ 95% [46,6-67,7]) paciente. Adenocarcinom slab diferențiat a fost observat la 12 (14,3%; IÎ 95% [6,8-21,8]) paciente. În anamneză, 24 (40%) de paciente au avut sarcină, 2/3 dintre acestea au avut naștere. La 10 (16,66%) paciente, nașterea a continuat cu complicații (naștere operatorie, intervenții intrauterine, traume la nivelul canalului de naștere). La 2 (3,33%) paciente, sarcina s-a încheiat cu avort spontan. 12 (20%) paciente din acest grup au prezentat complicații inflamatorii după un avort medical sau avort spontan. Numărul de chiuretaje

diagnostice efectuate anterior a variat de la 0 la 2 (un chiuretaj în 31 (51,7%; Î 95% [40,4-63,0]) cazuri, câte 2 - 9 (15,0%; Î 95% [6, 9-23,1]) paciente).

Analiza histopatologică a raclajului din cavitatea uterină a arătat că 4 (6,7%; Î 95% [0,4-13,0]) paciente cu CE au avut hiperplazie glandulară atipică în anamneză, 25 (41,7%; Î 95% [29,2-54,1]) paciente - hiperplazie endometrială atipică, 8 (13,3%; Î 95% [4,7-21,9]) paciente - polipoză endometrială (glandulară, fibroasă, glandular-fibroasă). 8 (10,7%; Î 95% [3,7-17,7]) paciente sufereau de infertilitate, 4 (5,3%; Î 95% [1,3-11,8]) paciente sufereau de infertilitate primară, 52 (85,3%; Î 95% [77,3-93,3]) paciente au avut antecedente de sarcină și naștere.

Tabelul 2.12. Caracteristicile clinice ale pacientelor cu cancer endometrial din grupul de risc crescut

	Media	Mediana	Deviația standard	IIQ
Durata bolii prezente, ani	1,3	1	0,5	0
Vârsta menarhe, ani	13,2	13	1,6	3
Durata ciclului menstrual, ani	27,6	27	4,9	9
Debutul vieții sexuale, ani	20,9	21	3,5	6
Durata postmenopauzei, ani	6,9	6	6,9	9
Durata menopauzei, ani	11,1	11	7,9	9
Durata perimenopauzei, ani	4,1	5	1,7	0
Debutul menopauzei, ani	49,9	51	3,8	2
Sarcini	4	3	2,8	3
Nașteri	2,1	2	1,4	2
Avorturi	0,6	0	0,7	1

În 20 (33,3%; Î 95% [27,9-36,3]) cazuri, hiperplazia endometrială a fost găsită pe fundalul endometrului în fază de secreție, la 6 (10%; Î 95% [8,0-11,8]) paciente endometrul a fost într-o fază de secreție incompletă, în 4 (6,6%; Î 95% [5,1-8,1]) - în fază de proliferație și în 2 (3,33%; Î 95% [2,2-4,4]) - pe fundalul atrofiei endometrului.

Analiza rezultatelor histopatologice a raclajului din cavitatea uterină a relevat că 2 (2,7%; Î 95% [0,0-6,3]) paciente cu CE au avut hiperplazie glandulară atipică în anamneză, 39 (52,0%; Î 95% [40, 7-68,5]) paciente - hiperplazie endometrială, 43 (57,3%; Î 95% [46.1-63.3]) paciente - polipoză endometrială (glandulară, fibroasă, glandulară).

În anamneză 11 (14,7%; Î 95% [6,7-22,7]) paciente prezentau fibroame uterine, 11 (14,7%; Î 95% [6,7-22,7]) paciente - adenomioză, 9 (12,0%; Î 95% [4,6- 19.4]) paciente au avut un istoric de anexită.

Tabelul 2.13. Repartizarea pacientelor cu EC din grupul de risc crescut în funcție de prezența bolilor organelor sistemului reproductiv

Patologiile organelor sistemului reproductiv	Abs.	RR	IÎ 95%
Mastopatia fibrochistică	23	30,7	20,8-41,1
Ectropion a colului uterin	7	9,3	3,1-17,1
Boala inflamatorie pelvină	9	12,0	5,1-20,3
Polipii corpului uterului	4	5,3	1,1-11,3
Polipii canalului cervical	28	37,3	26,1-48,5
Hiperplazia endometrială	39	52,0	40,0-63,4
Endometrioza	11	14,7	7,4-23,1
Miomul corpului uterului	11	14,7	7,1-22,9
Chist ovarian	20	26,7	16,7-37,3
Leucoplazie și krauroza vulvei	4	5,3	1,1-11,3

În rezultatul studiului nostru putem concluziona, că la pacientele cu CE din grupul de risc crescut comparativ cu pacientele din grupul de risc scăzut, se decelează următoarele caracteristici clinice: o vârstă mai precoce a menarhei, o vârstă mai târzie a menopauzei, un număr mai mic de sarcini în anamneză și o durată mai scurtă a bolii prezente. Există, de asemenea, o proporție semnificativ mai mare de patologie extragenitală. Evaluând vârsta medie a pacientelor investigate din grupul de risc crescut, am constatat următoarele: vârsta medie a pacientelor din acest lot este mai mare decât cea a pacientelor din grupul de risc scăzut ($61,0 \pm 1,15$ și $59,2 \pm 0,81$ ani, respectiv). Analiza corelațională între depistarea CE și faza biologică a organismului a demonstrat, că în perioada reproductivă se aflau doar 10,7% paciente din grupul de risc crescut și vârstă medie a pacientelor din acest grup este mai mare decât a pacientelor din grupul de risc scăzut ($45,9 \pm 1,08$ și $41,7 \pm 5,84$ ani, respectiv). Putem constata, că majoritatea pacientelor cu diabet zaharat sunt afectate de cancer endometrial în perioada postmenopauzală (85,3%), ce s-ar putea explica prin acțiunea tuturor alterațiilor induse de patologii ginecologice existente pe toată durata a vieții.

În baza rezultatelor obținute putem constata, că particularitățile morfologice ale tumorilor maligne la pacientele cu CE din grupul crescut se caracterizează prin frecvență înaltă a formelor mai agresive din punct de vedere a evoluției bolii (de exemplu, carcinoame non-endometriale).

2.3. Metode de cercetare

Examinarea clinică

Investigațiile standarde la pacientele cu CE în stadiile I-II au fost efectuate în laboratoarele biochimic, morfologia tumorilor, imuno-genetic, secțiunile tomografie computerizată și ecografie, radioimagică ale IMSP Institutul Oncologic.

Evaluarea indicatorilor antropometrici a inclus: măsurarea înălțimii, greutatei corporale.

Organizația mondială a sănătății a definit și a catalogat gradele de obezitate în baza indicelui de masă corporală (IMC).

IMC a fost calculat utilizând formula: $IMC = \text{greutatea corporală (kg)} / \text{înălțimea (m}^2\text{)}$, astfel:

- gradul 1 de obezitate cu indicele de masă corporală cuprins între 30 și 34,9 kg/m²
- gradul 2 de obezitate cu indicele de masă corporală cuprins între 35 și 39,9 kg/m²
- gradul 3 de obezitate cu indicele de masă corporală egal sau peste 40 kg/m²

Pacientele cu indicele de masă corporală (IMC) între 25 și 29,9 kg/m² au fost definite ca supraponderale.

Valorile normale ale indicelui masei corporale (IMC) sunt 24-26 kg/m² pentru femei.

Toate pacientele spitalizate au fost supuse unui examen clinic și de laborator, care a inclus următoarele metode de investigație pentru aprecierea și confirmarea diagnosticului de CE și pentru aprecierea extinderii procesului tumoral: clinică, instrumentală, citologică, morfologică și genetică.

Metode de laborator:

- Hemoleucograma și aprecierea VSH a fost efectuată cu ajutorul analizatorului hematologic PCE 210;
- Glicemia a fost determinată prin metoda enzimatică-calorimetrică cu ajutorul reactivului de diagnostic *in vitro* ELITech (Franța);
- Valorile ALT, AST au fost determinate prin metoda IFCC modificată fără fosfat de piridoxal cu ajutorul reactivului de diagnostic *in vitro* ELITech;
- Ureea și creatinina serice au fost determinate prin metoda enzimatică-UV cu ajutorul reactivului de diagnostic *in vitro* ELITech;
- Concentrația fibrinogenului a fost determinată prin cantitatea de fibrină formată la coagularea plasmei de către surplusul de calciu;
- Protrombina s-a apreciat după timpul de coagulare a plasmei sărace în trombocite în prezența unei cantități optime de calciu și a surplusului de tromboplastină tisulară;
- Analiza generală a urinei a fost efectuată după metoda standard.

Examenul ecografic al organelor genitale interne s-a efectuat în regim de timp real cu ultrasonograful de tip SAL-77A, produs de firma „Toshiba” (Japonia), dotat cu un set de transductori sectoriali și liniari cu frecvență de la 3,5 până la 7,5 MHz. În prezentul studiu s-a realizat ultrasonografia transvaginală și transabdominală a organelor pelviene interne. În timpul studiului, s-a determinat localizarea uterului și ovarelor și dimensiunile acestora.

O atenție deosebită a fost acordată stării endometrului (ecou M). Norma ecoului M în menopauză sunt dimensiunile care nu depășesc 4-5 mm. A fost evaluată ecogenitatea, structura, și dimensiunea ecoului M. Au fost evaluate starea și ecostructura țesutului parametric și structura ganglionilor limfatici paraaortali și iliaci.

Chiuretajul diagnostic fracționat al cavității uterine și al endocervixului s-a efectuat în funcție de rezultatele examenului ecografic (grosimea ecoului M) și al simptomelor pacientelor, care prezentau acuze de metroragie.

Pentru investigația citologică s-au prelevat frotiuri de pe colul uterin, din canalul cervical, din cavitatea uterină. Investigațiile citologice pentru confirmarea diagnosticului s-au efectuat în laboratorul citologic al IMSP IO. Fixarea preparatelor s-a efectuat prin metoda Leishman, iar colorația – după Romanowski.

Caracterul morfoopatologic al tumorii a fost studiat în Laboratorul Științific Biologia Cancerului al IMSP IO. Formele morfoopatologice ale tumorilor maligne la pacientele investigate au fost identificate în conformitate cu clasificarea histologică a OMS (1984), ediția a II-a.

Un set de materiale pentru cercetarea morfologică a fost efectuat prin examinarea inactivă a cavității uterine și a canalului cervical sau la efectuarea unei operații. Secțiunile histologice au fost preparate din blocuri de parafină conform tehnicii tradiționale cu colorare hematoxilină-eozină.

În studiul morfologic al tumorilor endometriale maligne, s-a evaluat tipul histologic și gradul de diferențiere tumorală, s-a evaluat profunzimea invaziei tumorale în miometru, răspândirea procesului către canalul cervical, stadiul bolii și starea trompelor uterine și a ovarelor.

Fixarea preparatelor prin metoda standard și colorarea lor s-a efectuat în majoritatea cazurilor cu hematoxilină-eozină, iar în unele cazuri, în adenocarcinom înalt diferențiat mucinos suplimentar cu mucicarmin și albastru de alcian după Stidmen, Carmin Best.

Studiul imunohistochimic a fost realizat prin metoda peroxidază-antiperoxidază conform metodei tradiționale. Demascarea antigenului a fost efectuată într-un cuptor cu microunde. Au fost folosiți anticorpi Ki-67 (Dako, clonă MIB, diluare gata, demascare în tampon citrat (pH=6,0). Incubația cu primii anticorpi a fost efectuată timp de 60 min la 25 °C. Sistemul de imagistică a fost utilizat Biogenex, Super Sensitive Nova - Sistem de detectare a biotinei-HRP, diaminobenzidină ca criogen.

La interpretarea rezultatelor distribuției produselor reacției imunohistochimice, s-a luat în considerare localizarea și intensitatea colorării, care a fost evaluată printr-o metodă semicantitativă conform următoarelor criterii: (-) - fără reacție, (+) - reacție slabă, (++) - reacție moderată, (+++) - reacție puternică, pronunțată.

Investigațiile molecular-genetice ale mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*: pentru cercetarea molecular-genetică au fost selectate aleatoriu 50 de pacienți cu CE în stadiile I-II din lotul total de studiu clinic cu număr similar din fiecare grup de risc.

Investigațiile molecular-genetice au fost efectuate în Laboratorul Științific Biologia Cancerului al IMSP IO. *PTEN* este o genă supresoare de tumori și codifică sinteza unei proteine cu rol în reglarea ciclului celular. Aceasta participă în calea de semnalizare PI3K-AKT care, la rândul său, este implicată în cancerogeneză.

Substituția c.389G>A este una dintre cele mai frecvente mutații a genei *PTEN*, este o alterație patogenică (scor de patogenitate FATHMM 0,99) și presupune înlocuirea guaninei din poziția 389 cu adenină. De obicei, aceasta apare sporadic sub formă de mutație somatică însă uneori poate fi transmisă și pe linie germinală (sindromul Cowden).

Pentru identificarea mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*, ADN-ul a fost izolat din 50 probe de țesut parafinat de la pacienta cu cancer endometrial. Histopatologia fiecărui specimen de tumoare FFPE a fost revizuită de către histopatologii experți pentru a confirma diagnosticul și pentru a determina conținutul celulelor tumorale. Selectarea cazurilor s-a bazat pe diagnosticul confirmat clinic de cancer endometrial.

Probe de țesut și ADN: ADN-ul genomic a fost izolat din 50 probe de țesut tumoral parafinat (FFPE) folosind kitul GeneJET FFPE DNA Purification Kit (ThermoFisher) conform protocolului de la producător. Din fiecare bloc de parafină au fost secționare cu microtomul câte 4 secțiuni de 10 μM. Următoarele etape fiind realizate în conformitate cu protocolul aferent kitului de la producător.

Cantitatea și puritatea probelor au fost estimate prin măsurare spectrofotometrică, utilizând spectrofotometrul NanoDropLite. Raportul $\lambda_{260}/\lambda_{280}$ a fost în limita valorilor 1,6 – 2,0, iar cantitatea de ADN a fost admisibilă. Integritatea ADN-ului genomic a fost estimată electroforetic utilizând sistemul de electroforeză în timp real E-Gel iBase (Invitrogen). ADN-ul genomic a fost fragmentat, dar totuși păstrând o parte din secvențe funcționale pentru amplificare. Concentrația a fost determinată folosind kitul Qubit dsDNA BR Assay Kit (Invitrogen) și fluorometrul Qubit 3.0 (Invitrogen). Concentrația ADN-ului a variat între 6-8 ng/ml.

Aprecierea castPCR (Competitive Allele-Specific TaqMan PCR): probele de ADN genomic au fost analizate pentru mutația *PTEN*:c.389G>A (p.R130Q) prin metoda castPCR cu utilizarea primerilor și probelor specifice TaqMan Mutation Detection Assays *PTEN*_5033_mu și *PTEN*_reference (Figura 2.3.).

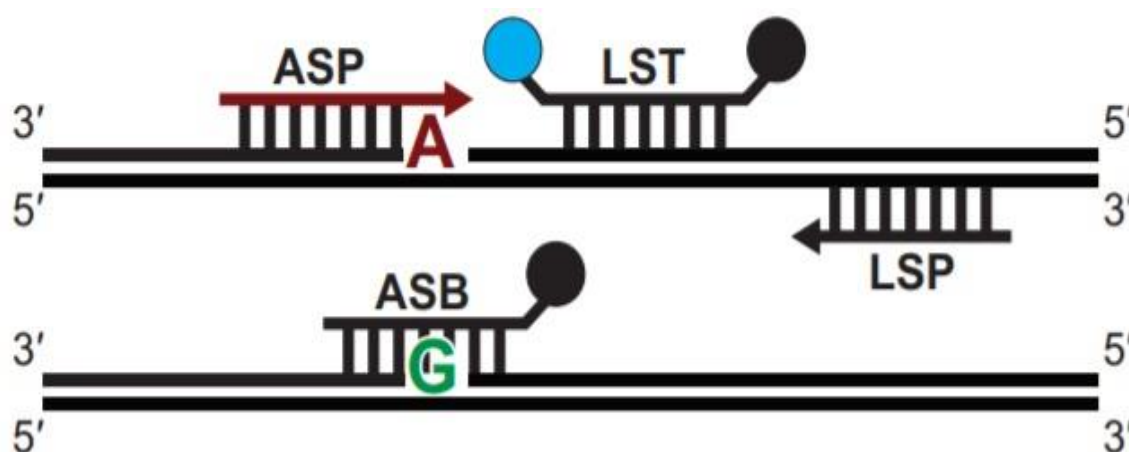


Fig. 2.3. Primerii și probele utilizate pentru identificarea specifică a mutației PTEN:c.389G>A prin metoda castPCR

Notă: ASP – primer alelă-specific, ASB – blocant alelă-specific, LST – probă TaqMan locus-specifică, LSP – primer locus specific

Experimentul pentru detectarea mutației a fost realizat utilizând 20 μ L volum de reacție compus din ADN genomic, TaqMan Genotyping Master Mix 2X și TaqMan Mutation Detection Assays (care conține primeri alelă-specifici, blocatori alelă-specifici, probe TaqMan locus-specifice, și primeri locus-specifici). Reacția a fost realizată la sistemul PCR în timp real Applied Biosystems 7500 (Life Technologies) cu următoarele condiții: 95°C pentru 10 minute; 5 cicluri: 92°C pentru 15 secunde și 58°C pentru 1 minută; 40 cicluri: 92°C pentru 15 secunde și 60°C pentru 1 minută. Fluxul probelor pentru castPCR este reprezentat în figura 2.4.

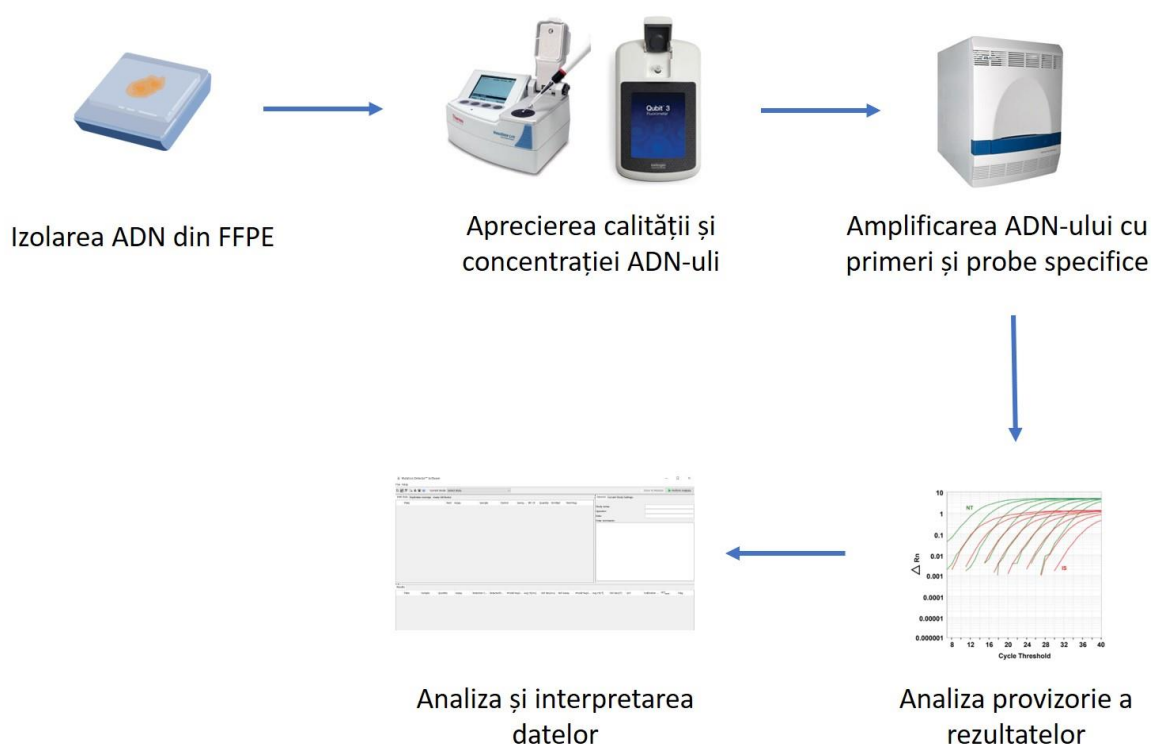


Fig. 2.4. Fluxul de lucru pentru castPCR

Investigațiile molecular-genetice ale hipermetilării genei *MLH1*: genele care fac parte din calea de reparare a ADN-ului MMR - *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MSH6*, și altele, în cazul în care sunt metilate, prezintă o scădere a expresiei și o cauză a instabilității genomice și instabilității microsatelitice (MSI).

Deficiența MMR este frecventă în cancerul endometrial, apărând în 20-40% din cazuri. *MLH1* este gena MMR cel mai des expusă mutațiilor sau epimutațiilor în cancerul endometrial iar hipermetilarea acesteia se întâlnește în marea majoritate a cazurilor de CE cu MMR deficient [2]. Gena *MLH* conține 48 de situri CpG în amonte de site-ul de inițiere al transcrierii. Expresia acesteia se modifică în dependență de numărul de situri CpG metilate.

Pentru cercetarea molecular-genetică au fost selectate aleatoriu 50 de paciente cu CE în stadiile I-II din lotul total de studii clinice cu număr similar din fiecare grup de risc. Pentru generarea datelor de metilare a genei *MLH1*, ADN-ul a fost izolat din 50 probe de țesut parafinat de la pacientele cu cancer endometrial. Histopatologia fiecărui specimen de tumoare FFPE a fost revizuită de către histopatologii experți pentru a confirma diagnosticul și a determina conținutul celulelor tumorale. Selectarea cazurilor s-a bazat pe diagnosticul confirmat clinic de cancer endometrial.

Probe de țesut și ADN: calitatea, integritatea, cantitate și concentrația de ADN corespunde criteriilor descrise în subcapitolul 2.2.5., fiind utilizate aceleași probe de țesut parafinat și probe de ADN izolat.

MS-PCR (Methylation specific Polymerase Chain Reaction): pentru identificarea metilării promotorului genei *MLH1*, 120 ng/probă de ADN izolat a fost modificat prin tratarea cu bisulfit de sodiu utilizând kitul EpiJET Bisulfite Conversion Kit (ThermoFisher) în conformitate cu protocolul. Statutul de metilare a genei *MLH1* a fost determinat utilizând metoda reacției de polimerizare în lanț specifică metilării (MS-PCR – Methylation specific Polymerase Chain Reaction) și primeri specifici atât pentru fragmentele nemetilate cât și pentru cele metilate (Tabelul 2.14).

Tabelul 2.14. Tipul de primeri utilizați și succesivitatea nucleotidică a acestora

	Primer	Succesivitatea nucleotidelor
1	Sens nemetilat (<i>MLH1</i> _unmet_fwd)	5'-TTTTGATGTAGATGTTTATTAGGGTTGT-3'
2	Antisens nemetilat (<i>MLH1</i> _unmet_rev)	5'-ACCACCTCATCATAACTACCCACA-3'
3	Sens metilat (<i>MLH1</i> _met_fwd)	5'-ACGTAGACGTTTATTAGGGTCGC-3'
4	Antisens metilat (<i>MLH1</i> _met_rev)	5'-CCTCATCGTAACTACCCGCG-3'

Reacția PCR a fost realizată utilizând kitul Platinum PCR SuperMix (ThermoFisher) și protocolul aferent kitului cu modificarea temperaturii de aliniere a primeri-lor reieșind din dimensiunea și succesivitatea nucleotidelor.

Reacția a fost realizată la termociclorul Veriti cu următoarele condiții: 94°C pentru 2 minute; 3 cicluri: 94°C pentru 30 secunde, 60°C pentru 30 secunde, 68°C pentru 30 secunde; 40 cicluri: 94°C pentru 30 secunde, 58°C pentru 30 secunde, 68°C pentru 30 secunde, și 1 un ciclu de 68°C pentru 2 minute. Apoi câte 10 μl de ampliconi au fost supuși migrării în gel de agaroză de 2,5 % colorat cu bromură de etidiu (EtBr) apoi vizualizați utilizând iluminatorul UV. Fluxul probelor pentru MS-PCR este reprezentat în figura 2.5.

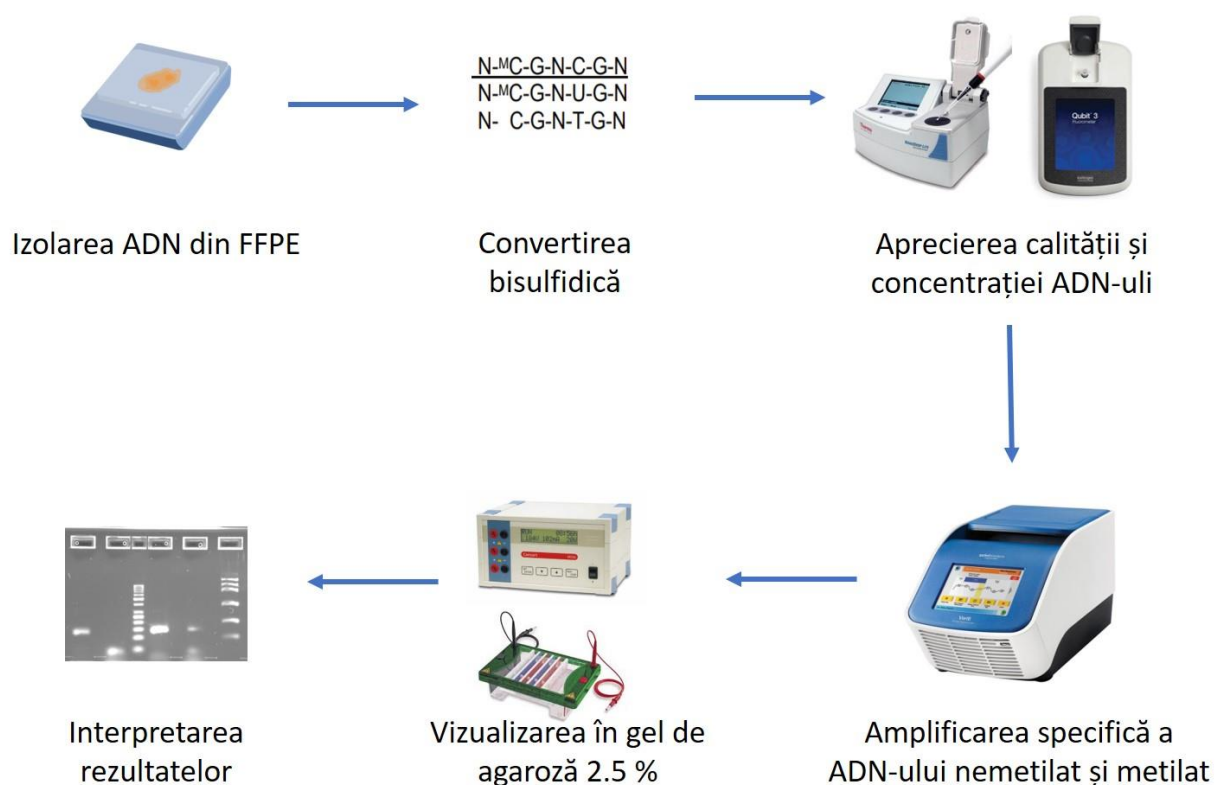


Fig. 2.5. Fluxul de lucru pentru reacția de polimerizare în lanț specifică metilării

Evaluarea parametrilor indicelui neutrofile/limfocitare și al indicelui trombocite/limfocite: prelevarea de sânge pentru studiul testului general de sânge la femei a fost efectuată pe stomacul gol, la 12-14 ore după masă, de la 8 la 9 dimineața, prin venepuncție din vena ulnară, în timp ce pacienta era în poziție așezată.

Pentru a obține ser, probele de sânge au fost centrifugate după 2 ore în condiții staționare (la 3000 rpm timp de 5 minute).

Indicele neutrofile/limfocite a fost calculat pe baza datelor testului general de sânge. INL a fost calculat ca raportul dintre numărul absolut de neutrofile și numărul absolut de limfocite din sângele periferic.

Indicele trombocite/limfocite (ITL), care a fost calculat ca raportul dintre numărul absolut de trombocite și numărul absolut de limfocite din sângele periferic.

Valoarea medie a hemoglobinemiei a fost mai înaltă în grupul de risc crescut – $126,0 \pm 1,56$ g/l, iar cea mai joasă în grupul de risc intermediar – $118,9 \pm 1,95$ g/l (Figura 2.6.).

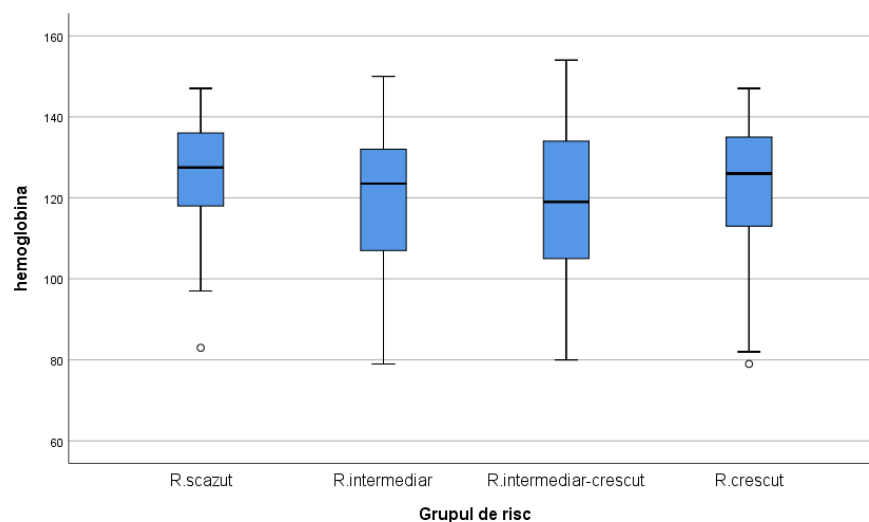


Fig. 2.6. Nivelul hemoglobinei în funcție de grupul de risc, g/l

Leucocitele au înregistrat cea mai mică valoare medie în grupul de risc intermediar-crescut – $7,6 \pm 0,72 \times 10^9/\text{ml}$, iar cea mai înaltă în grupul de risc scăzut – $9,3 \pm 2,05 \times 10^9/\text{ml}$ (Figura 2.7.).

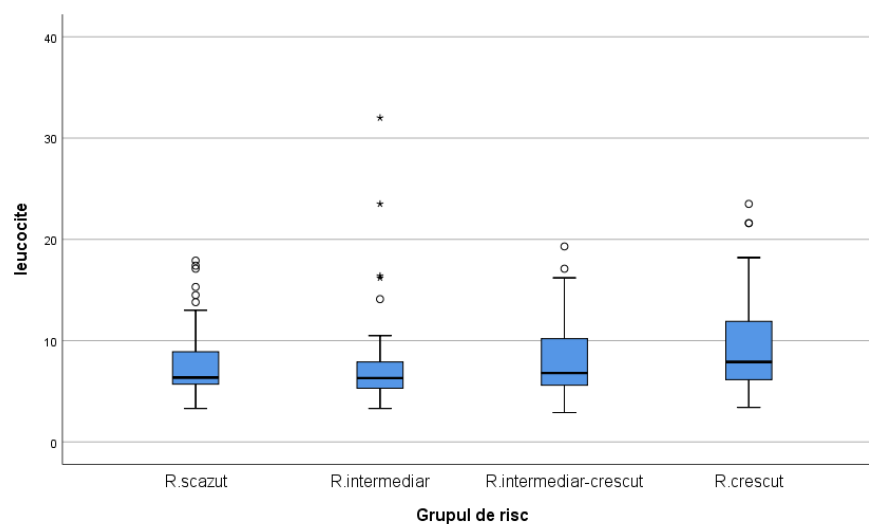


Fig. 2.7. Nivelul leucocitelor în funcție de grupul de risc, $\times 10^9/\text{ml}$

VSH a avut cea mai înaltă valoare medie în grupul de risc intermediar – $14,8 \pm 1,03 \text{ mm/oră}$ și cea mai joasă valoare în grupul de risc crescut – $13,6 \pm 0,78 \text{ mm/oră}$ (Figura 2.8.).

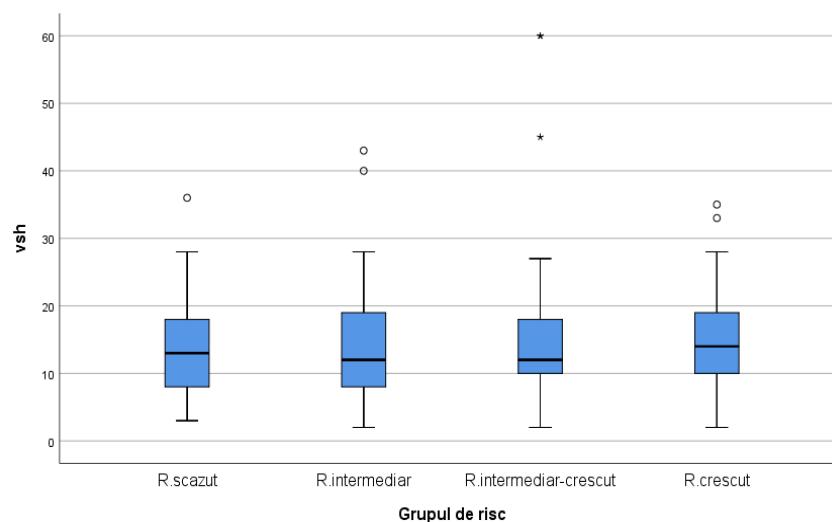


Fig. 2.8. Nivelul VSH în funcție de grupul de risc, ml/oră

Nivelul de trombocite nu a diferențiat esențial în funcție de grupul de risc (Figura 2.9.).

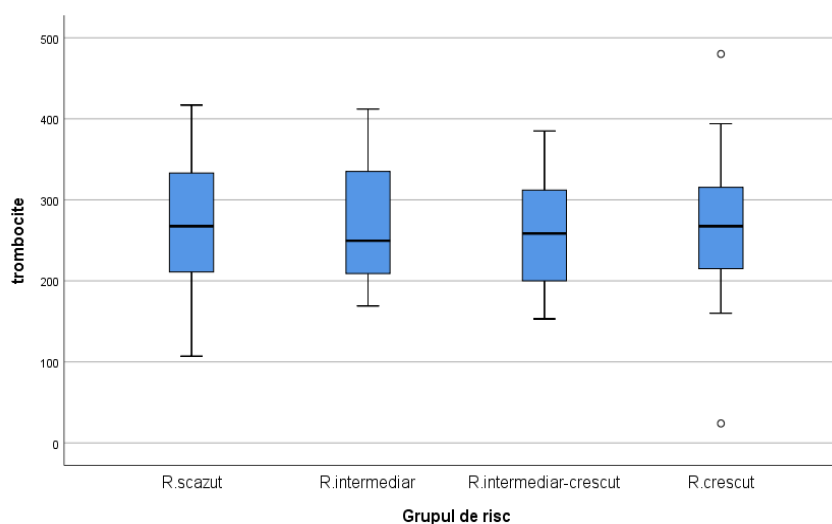


Fig. 2.9. Nivelul de trombocite în funcție de grupul de risc, $10^9/\text{ml}$

Valoare medie a nivelului de limfocite a fost diferit doar în grupul de risc crescut - $30,3 \pm 1,05\%$ (Figura 2.10.).

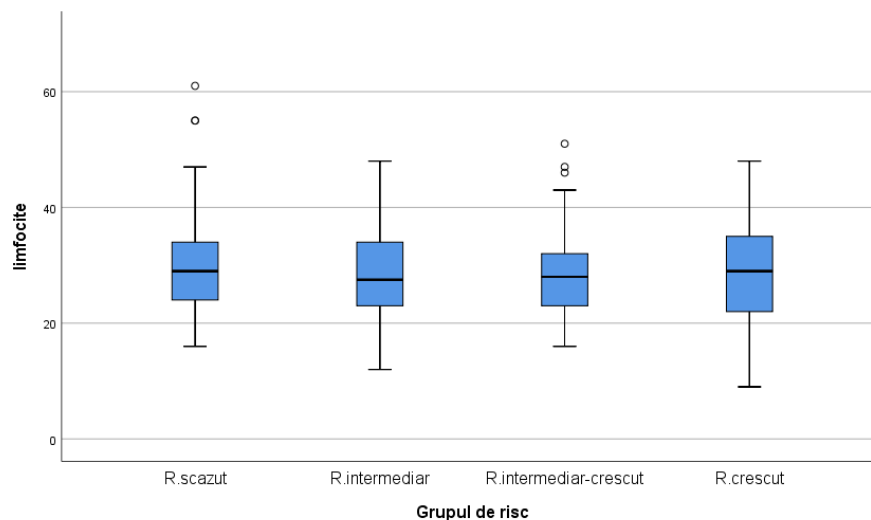


Fig. 2.10. Nivelul de limfocite în funcție de grupul de risc, $10^9/\text{ml}$

2.4. Metodologie pentru prelucrarea statistică a rezultatelor cercetării

Toate rezultatele sunt prezentate în tabele ca $M \pm m$, unde M este media eșantionului, iar m este eroarea mediei.

Următoarele metode au fost utilizate pentru prelucrarea statistică a rezultatelor obținute:

- Testul Shapiro-Wilk pentru evaluarea distribuției normale în populația;
- Testul t-Student pentru variabile independente - pentru a evalua fiabilitatea diferențelor dintre grupuri cu o distribuție normală a trăsăturii. Diferențele au fost considerate semnificative la $p < 0,05$;
- Analiza bivariată s-a efectuat prin testul non-parametric Mann-Whitney. Diferențele au fost considerate semnificative la $p < 0,05$;
- Testul Fisher (sau testul Fisher-Yates , testul Fisher-Irwin , testul χ^2 exact) este un test de verificare a ipotezelor utilizat în teste non-parametrice în situații cu două variabile nominale dihotomice și eșantioane mici;
- Indicele de corelație a rangului Spearman R este o măsură statistică neparametrică a corelației. Măsoară gradul de relație dintre două variabile și singura ipoteză necesară este că acestea sunt ordonabile.
- Supraviețuirea globală și fără recidive la pacienții cu CE a fost calculată utilizând programul IBM SPSS Statistics 26.0. Curbele cumulative ale ratelor de supraviețuire au fost construite folosind metoda Kaplan-Meier. Semnificația diferențelor de supraviețuire între grupuri a fost evaluată prin testul Gehan-Wilcoxon [106, 136].

Pentru a crea un model matematic pentru prezicerea evoluției CE a fost utilizată analiza discriminantă [111, 195]. Rezultatul analizei discriminante a fost un model statistic reprezentat de

un set de funcții liniare discriminante care determină limitele luării deciziilor în beneficiul unui anumit grup (clasă). Numărul de funcții liniare discriminante este egal cu numărul grupurilor.

Pentru a estima un prognostic al evoluției CE în stadiile I-II, a fost efectuată o evaluare vastă a principalilor indicatori clinici și morfologici, stadiul bolii, histotipul și gradul de diferențiere a tumorii, datelor antropometrice, clinice și anamnestice, nivelul anumitor parametri sanguini, markeri imunohistochimici ai tumorii și markeri molecular-genetici în tumorile endometriale.

Noi am analizat în total 14 indicatori. A fost construit un model matematic de prognostic: pentru pacientele cu CE în stadiile I-II.

Criteriul pentru un prognostic favorabil a fost definit ca supraviețuire fără recidivă în termen de 36 de luni. Astfel, toate pacientele cu CE în stadiile I-II au fost împărțite în 2 loturi (2 clase) - cu prognostic favorabil și nefavorabil. În continuare, au fost calculate funcții discriminante liniare - combinații liniare de variabile (indicatori) incluse în modelul de forma $Y = a * x + b$, unde Y este valoarea funcției discriminante liniare; X este variabila definitorie, a este coeficientul la variabila definitorie; b este o constantă independentă.

Procedura de atribuire a unui obiect unei clase a fost efectuată în 2 etape:

- Calculul valorilor Y_1 și Y_2 utilizând valorile atributelor obiectului investigat.
- Obiectul a fost atribuit (pacienta cu CE în stadiile I-II uneia dintre clase (dacă $Y_1 > Y_2$, atunci obiectul aparține primei clase (rezultat nefavorabil); dacă $Y_1 < Y_2$, atunci obiectul aparține celei de-a doua clase (rezultat favorabil).

Procedura de analiză discriminantă a inclus următoarele etape:

1. Selectarea primară a caracteristicilor pentru construirea unui model;
2. Un set de exemple (grupuri de paciente în care sunt înregistrate semnele selectate);
3. Selectarea caracteristicilor informative și formarea unui grup de funcții diferențiale pe baza acestora;
4. Controlul calității modelului discriminant creat.

Analiza a fost efectuată folosind software-ul IBM SPSS Statistics 26.0.

Pentru toate grupurile, rezultatele calcului au fost evaluate după schemă: un rezultat favorabil - pacienta a fost în viață timp de cel puțin 36 de luni după efectuarea tratamentului, un rezultat nefavorabil - pacienta este în viață cu recidive sau metastaze sau pacienta a decedat.

La calcularea funcțiilor discriminante, obiectul (pacienta cu CE în stadiile I și II) a fost atribuit uneia dintre clase. Dacă $Y_1 > Y_2$, atunci obiectul aparține primei clase (prognostic nefavorabil) cu un nivel de semnificație $p < 0,05$, ceea ce înseamnă că riscul de a dezvolta un rezultat nefavorabil la pacienta este de 95%. Dacă $Y_1 < Y_2$, atunci obiectul aparține clasei a doua

(prognostic favorabil) cu un nivel de semnificație $p < 0,05$, ceea ce înseamnă că riscul de a dezvolta un rezultat favorabil este de 95%.

Calitatea funcțiilor obținute a fost evaluată la 20 de paciente, care nu au fost incluse în eșantionul principal. Sensibilitatea și specificitatea modelului matematic dezvoltat au fost de 87% și 89%.

2.5. Concluzii la capitolul 2

1. Studiul este bazat pe analiza rezultatelor obținute în urma utilizării unui algoritm complex de investigare și cercetare științifică a unui număr de 269 de paciente, care au format lotul de bază. Loturile studiate au fost catalogate în conformitate cu criteriile modificate ale ESGO.

2. Potrivit recomandărilor modificate ale ESGO, lotul general al pacientelor a fost divizat în 4 grupuri vizavi de riscul recurenței: scăzut, intermediar, intermediar-crescut și crescut. Aceste 4 grupuri sunt jalonate în dependență de vârstă și activitatea reproductivă, stadiul bolii, subtipul histopatologic și gradul de diferențiere tumorală. Pentru selectarea pacientelor încuse în studiu s-au utilizat criteri de includere și excludere.

3. Toate metodele de cercetare imunohistochimică, histopatologică, molecular-genetică sunt descrise în asociere cu expunerea utilajului tehnic utilizat.

4. În mod detaliat sunt relatate manevrele procesării statistice a datelor colectate. Datele statistice au fost prelucrate separat din cauza prezenței în studiu a indicilor cu mai multe variante.

3. ANALIZA CARACTERISTICILOR CLINICE ȘI MORFOLOGICE ALE PACIENTELOR CU CANCER ENDOMETRIAL ÎN STADIILE I-II

3.1. Caracteristici clinice, anamnestice, constituționale și reproductive la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II

Parametrii anamnestici și clinici au fost studiați la 269 de paciente cu CE în stadiile I-II.

Primul grup a inclus 60 de paciente cu CE de risc scăzut, al doilea grup a inclus 50 de paciente cu CE de risc intermediar, iar al treilea grup a inclus 84 de paciente cu CE de risc intermediar-ridicat. Al patrulea grup de risc crescut a fost format din 75 de paciente.

Actualmente este recunoscut faptul, că vârsta este un factor de risc important în apariția CE. Vârsta pacientelor cu CE în stadiile I-II din toate grupurile de risc nu a diferit semnificativ și a variat de la 30 la 86 de ani, fără diferență statistic semnificativă între grupurile de risc ($\chi^2=11,681$; $gl=15$, $p>0,05$).

Evaluând vârsta pacientelor din lotul de studiu au fost constatate următoarele: vârsta de 30-39 de ani s-a întâlnit la 2 (0,7%; Î 95% [0,0-1,9]) paciente, iar cel mai frecvent a fost observată vârsta de 60-69 de ani, care a fost înregistrată la 116 (43,1%; Î 95% [37,5-49,1]) paciente.

Tabelul 3.1. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu vârstă

Grup de vârstă	Grupul de risc								TOTAL	
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut			
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
30-39 ani	1	1,7	0	0,0	1	1,2	0	0,0	2	0,7
40-49 ani	8	10,7	6	12,0	6	7,1	4	6,7	24	8,9
50-59 ani	24	32,0	22	44,0	33	39,3	20	33,3	99	36,8
60-69 ani	37	49,3	18	36,0	32	38,1	29	48,3	116	43,1
>70 ani	6	8,0	4	8,0	12	14,3	6	10,0	28	10,4

Deregările hormonale și metabolice, cum ar fi obezitatea, sindromul metabolic și maladia hipertensivă reprezintă verigile patogenetice de bază în declanșarea cancerului endometrial.

La studierea influenței indicelui de greutate în CE, s-a constatat că greutatea corporală mai mică de 60 kg și în intervalul de 60-69 kg a fost observată mai des la pacientele din grupul de risc scăzut și intermediar, decât în cele de risc intermediar-crescut și crescut în care predomină femeile cu masa corporală în intervalul 70-71 kg și peste 80 kg, respectiv (Tabelul 3.2). Între loturi se atestă diferență statistic semnificativă ($\chi^2=233,854$; $gl=9$, $p < 0,001$).

Tabelul 3.2. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu indicatorii de greutate

Greutate, masa corpului, kg	Grupuri de paciente								TOTAL	
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut			
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
<60 kg	30	40,0	10	20,0	-	-	1	1,7	41	15,2
60-69 kg	33	44,0	25	50,0	11	13,1	-	-	69	25,7
70-79 kg	11	14,7	13	26,0	45	53,6	3	5,0	72	26,8
>80 kg	1	1,3	2	4,0	28	33,3	56	93,3	87	32,3

La analiza indicatorilor antropometrici în grupurile de studiu, s-a relevat că în grupurile de risc crescut și intermediar-crescut, greutatea corporală a fost semnificativ mai mare decât în grupurile de risc scăzut și moderat.

Conform prevalenței gradului de obezitate, s-a relevat că obezitatea de gradul I-II a fost observată cel mai des la paciențele din grupul scăzut, respectiv în 29 și 33 cazuri. Obezitatea de gradul III-IV a fost înregistrată cel mai des în grupul de risc crescut, respectiv 44 și 56 cazuri (Tabelul 3.3.).

Tabelul 3.3. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu indicii de masă corporală

Obezitate	Grupul de risc								Total	
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		Abs.	%
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%		
I	29	38,6	10	20,0	-	-	1	1,7	40	14,8
II	33	44,0	25	50,0	11	13,1	-	-	69	25,7
III	11	14,7	13	26,0	4	2,0	44	73,3	72	26,8
IV	2	0,7	2	4,0	28	33,3	56	93,3	89	33,0
absentă	30	40,0	10	20,0	-	-	1	1,7	41	15,2

Analizând datele obținute, putem concluziona următoarele: majoritatea pacienților cu CE au prezentat obezitate de gradul IV în 33,0% cazuri, ce e de 2,2 ori mai frecvent în comparație cu paciențele care au prezentat obezitate de gradul I în 14,8%.

După cum se cunoaște, obezitatea, prin țesutul adipos subcutanat, rămâne o sursă endogenă suplimentară de estrogeni. Se dezvoltă hiperestrogenismul, în timp ce efectele pe termen lung ale estrogenilor asupra endometriului contribuie la dezvoltarea proceselor proliferative în endometru și declanșarea cancerului endometrial.

În studiul nostru am analizat prezența și frecvența neoplaziilor maligne la rudele de gradul I ale pacienților cu CE. Ereditatea agravată pentru cancerul organelor sistemului reproductiv a fost observată la paciențele cu CE din toate grupurile de risc. La studierea eredității agravate în CE, s-

au obținut următoarele date, prezentate în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. Dependența CE de prezența tumorilor maligne la rudele pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Rudele	Grupul de risc								P gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Rudele de gradul I (părinți, frați și surori) 3 și mai mult	13	17,3	9	18,0	16	19,0	10	16,7	$\chi^2=0,154$; p>0,05
Rudele de gradul I (părinți, frați și surori) 2 rude	8	10,7	10	20,0	10	11,9	11	18,3	$\chi^2=3,277$; p>0,05
Rudele de gradul I (părinți, frați și surori) o rudă	13	17,3	9	18,0	22	26,2	8	13.3	$\chi^2=4,167$; p>0,05

La analiza localizării tumorilor maligne la rudele de gradul I pacientelor cu CE în stadiile I-II s-a observat, că tumorile hormonal-dependente (tractul gastrointestinal, organele genitale) au fost diagnosticate într-un procent mai mare de cazuri la rudele pacientelor cu CE din grupul de risc crescut (48,6%) decât la pacientele din grupul de risc scăzut (40,8%) (Tabelul 3.5.).

Tabelul 3.5. Localizarea tumorilor maligne la rudele de gradul I ale pacientelor cu CE în stadiul I-II în funcție de grupul de risc

Localizarea	Grupul de risc								P gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Plămâni	8	10,7	9	18,0	15	17,9	11	18,3	$\chi^2=2,196$; p>0,05
Tractul gastrointestinal	9	12,0	9	18,0	17	20,2	15	25,0	$\chi^2=3,944$; p>0,05
Glanda mamară	17	22,7	17	34,0	23	27,4	15	25,0	$\chi^2=2,089$; p>0,05
Organele genitale	10	13,3	4	8,0	6	7,1	4	6,7	$\chi^2=2,551$; p>0,05
Rinichii, vezica urinară	1	1,3	1	2,0	3	3,6	1	1,7	$\chi^2=1,069$; p>0,05
Laringe	-	-	-	-	1	1,2	-	-	$\chi^2=2,211$; p>0,05
Creier	4	5,3	7	14,0	8	9,5	5	8,3	$\chi^2=2,838$; p>0,05
Leucemii	2	2,7	1	2,0	1	1,2	1	1,7	$\chi^2=0,492$; p>0,05
Melanom malign și tumorile pielii	-	-	-	-	1	1,2	-	-	$\chi^2=2,211$; p>0,05

Tumorile maligne la rudele de gradul I s-au înregistrat la 64 (85,3%; ÎI 95% [77,3-93,3]) paciente din lotul de risc scăzut, 44 (88,0%; ÎI 95% [79,0-97,0]) din lotul de risc intermediar, 80 (95,2%; ÎI 95% [90,7-99,8]) din lotul de risc intermediar-crescut și 59 (98,3%; ÎI 95% [95,1-101,6]) din lotul de risc crescut. Rudele de primul grad de rudenie (părinți, frați) din grupul de risc crescut, mai des de 1,24 (1,15-1,34) ori, au suferit de neoplazii maligne, comparativ cu rudele pacientelor din grupul de risc scăzut ($p < 0,01$). Putem constata o ereditate mai agravată în loturile de risc mai crescut, veridic statistic ($\chi^2 = 9,870$; $gl = 3$, $p < 0,05$).

Datele din literatura de specialitate atestă, că lanțul hipotalamus-hipofiză-ovar joacă un rol important în dezvoltarea cancerului, în general, și al cancerului endometrial, în special. În pofida faptului, că anumite concepții ce țin de particularități ale funcției organelor reproductive la femei sunt elucidate, aspectele funcțiilor menstruale și reproductive la pacientele cu cancer endometrial din diferite grupuri de risc nu sunt studiate.

În acest context, studiul particularităților funcțiilor menstruale și reproductive la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc prezintă interes în privința vârstei apariției menarhei și a caracterului ciclului menstrual.

Analiza datelor privind vârsta debutului menarhei nu a relevat diferențe semnificative statistic între pacientele cu CE din diferite grupuri de risc. Ciclul menstrual regulat mai frecvent au menționat femeile din grupul de risc intermediar-crescut și grupul de risc crescut, 16,7% și 35,0%, respectiv; pe când în lotul de risc scăzut și lotul de risc intermediar au menționat doar 13,3% și 6,0%, respectiv. Între loturi se atestă o diferență statistic semnificativă ($\chi^2 = 17,951$; $gl = 3$, $p < 0,001$). Deși polimenoreea a fost menționată mai frecvent de pacientele din lotul de risc crescut – 40,0%, diferență statistic semnificativă nu se atestă ($\chi^2 = 5,686$; $gl = 3$, $p > 0,05$). Hipermenoreea este diagnosticată mai des de pacientele din lotul de risc intermediar-crescut – 42,9%, însă fără diferență statistic semnificativă între loturi ($\chi^2 = 2,722$; $gl = 3$, $p > 0,05$). Rata poliomenoreei, la fel, este mai înaltă la pacientele din lotul de risc intermediar-crescut – 10,0%, fără diferență statistic semnificativă între loturi ($\chi^2 = 2,842$; $gl = 3$, $p > 0,05$).

Durata ciclului menstrual până la 26 de zile s-a observat la jumătate dintre paciente - 131 (48,7%; ÎI 95% [42,4-55,0]) cazuri. Ciclul menstrual de durată 27-30 de zile s-a înregistrat la 58 (21,6%; ÎI 95% [16,4-26,4]) paciente. Durata ciclului menstrual nu diferă semnificativ între loturile de studiu ($F = 0,439$; $p > 0,05$).

Vârsta apariției menopauzei în lotul general este de $50,2 \pm 0,22$ fără diferență statistic semnificativă între loturi ($F = 1,52$; $p > 0,05$).

Metroragiile în perioadă postmenopauzală au fost diagnosticate la bolnavele din toate loturile, însă cea mai mare frecvență a fost înregistrată în lotul de risc crescut – 43 (82,7%; ÎI 95%

[72,0-92,3]) și cel de risc intermediar-crescut - 58 (75,3%; ÎI 95% [65,8-84,2]), fiind atestată diferență statistic semnificativă ($\chi^2=9,156$; gl=3, $p<0,05$).

Sindromul climacteric a fost prezent la 53 (19,7%; ÎI 95% [15,2-24,9]) paciente din lotul general, fără diferență statistic semnificativă între loturi ($\chi^2=7,639$; gl=3, $p>0,05$).

Tabelul 3.6. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu caracterul ciclului menstrual

Caracteristicile ciclului menstrual	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Vârstă apariției menarhei									
Până la 12 ani	6	8,0	11	22,0	10	11,9	9	15,0	$\chi^2=6,979$; gl=6; p>0,05
12-14 ani	49	65,3	25	50,0	56	66,7	36	60,0	
15-16 ani	20	26,7	14	28,0	18	21,4	15	25,0	
Tipul ciclului menstrual									
Ciclul regulat	10	13,3	3	6,0	14	16,7	21	35,0	$\chi^2=17,951$; gl=3; p<0,001
Polimenoreea	17	22,7	14	28,0	30	35,7	24	40,0	$\chi^2=5,686$; gl=3; p>0,05
Hipermenoreea	24	32,0	18	36,0	36	42,9	19	31,7	$\chi^2=2,722$; gl=3; p>0,05
Proiomenoreea	6	8,0	1	2,0	6	7,1	6	10,0	$\chi^2=2,842$; gl=3; p>0,05
Durata ciclului menstrual									
Până la 26 zile	37	49,3	28	56,0	37	44,0	29	48,3	$\chi^2=2,896$; gl=6; p>0,05
27- 30 zile	14	18,7	11	22,0	19	22,6	14	23,3	
31 zile și mai mult	24	32,0	11	22,0	28	33,3	17	28,3	
Vârstă apariției menopauzei									
Până la 40 ani	-	-	-	-	4	4,8	2	3,3	$\chi^2=14,194$; gl=9; p>0,05
40- 44 ani	6	8,0	1	2,0	2	2,4	-	-	
45- 49 ani	13	17,3	8	16,0	16	19,0	14	23,3	
50 ani și mai mult	56	74,7	41	82,0	62	73,8	44	73,3	
Hemoragiile uterine (HU)									
Prezent	48	73,8	24	55,8	58	75,3	43	82,7	$\chi^2=9,156$; gl=3; p<0,05
Sindromul climacteric									
Prezent	63	84,0	40	80,0	72	85,7	41	68,3	$\chi^2=2,896$; gl=6; p>0,05

La studierea vârstei debutului primei nașteri diferență statistic semnificativ nu se observă ($\chi^2=3.170$; gl=3; $p> 0.05$). La analiza datelor din perioada de lactație diferență statistică semnificativă nu se observă ($\chi^2=6.686$; gl=9; $p> 0.05$) (Tabelul 3.7).

Tabelul 3.7. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu numărul de nașteri

Nașteri	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
1-2	41	54,7	36	72,0	45	53,6	39	65,0	$\chi^2=8,307$; gl=9; p>0,05
3-4	20	26,7	7	14,0	23	27,4	15	25,0	
5 și mai multe	8	10,7	3	6,0	8	9,5	2	3,3	
Absente	6	8,0	4	8,0	8	9,5	4	6,7	

Analizând funcția reproductivă la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc diferențe statistic semnificative nu au fost observate $\chi^2=8,307$; gl=9; p>0,05 (Tabelul 3.8).

Tabelul 3.8. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu caracteristici ale funcției

Caracteristici ale funcției reproductive	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Vârsta apariției primei nașteri									
Până la 18 ani	6	8,7	4	8,7	12	16,0	4	7,3	$\chi^2=11,311$; gl=9; p>0,05
19-25 ani	56	81,2	32	69,6	53	70,7	42	76,4	
26- 30 ani	7	10,1	8	17,4	7	9,3	9	16,4	
Mai mult de 30 ani	-	-	2	4,3	3	4,0	-	-	
Făt macrosom (4 kg și mai mult)									
Da	28	37,3	15	30,0	28	33,3	27	45,0	$\chi^2=3,170$; gl=3; p>0,05
Perioadă de lactație									
Nu a alăptat	3	4,3	2	4,3	5	6,6	1	1,8	$\chi^2=6,686$; gl=9; p>0,05
Până la 3 luni	5	7,2	6	13,0	8	10,5	10	17,9	
4-6 luni	31	44,9	17	37,0	30	39,5	26	46,4	
7-9 luni	29	41,9	15	35,0	30	39,5	21	36,7	
10 si mai multe luni	30	43,5	21	45,7	33	43,4	19	33,9	

Studiul efectului infertilității asupra riscului de progresie a CE (Tabelul 3.9.) a arătat, că diferență statistic semnificativă nu se atestă atât privind infertilitatea primară ($\chi^2=6,660$; gl=3; p>0,05), cât și privind infertilitatea secundară ($\chi^2=1,885$; gl=3; p>0,05).

Tabelul 3.9. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența infertilității

Infertilitatea	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Primară	4	5,3	2	4,0	6	7,1	4	6,7	$\chi^2=6,660$; gl=3; p>0,05
Secundară	4	5,3	4	8,0	3	3,6	5	8,3	$\chi^2=1,885$; gl=3; p>0,05

La studierea influenței numărului de avorturi induse asupra riscului de apariție a CE, s-au obținut diferențe semnificative statistic: câte 1-2 avorturi au avut jumătate dintre pacientele din loturile de risc intermediar, intermediar-crescut și crescut. Totodată, este important de menționat că rata a 3-4 avorturi au avut femeile din lotul de risc intermediar, pe când cele din lotul de risc crescut nu au avut o așa cantitate de întreruperi de sarcină. Între loturi se atestă o diferență statistic semnificativă ($\chi^2=20,540$; $gl=6$; $p<0,01$). La analiza istoricului avorturilor spontane, nu au existat diferențe semnificative statistic între grupurile de studiu ($\chi^2=2.339$; $gl=3$; $p>0,05$) (Tabelul 3.10).

Tabelul 3.10. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu numărul de avorturi

Numărul de avorturi	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
0	46	61,3	18	36,0	33	39,3	31	51,7	$\chi^2=20,540$; gl=6; p<0,01
1-2	20	26,7	24	48,0	42	50,0	29	48,3	
3-4	9	12,0	8	16,0	9	10,7	-	-	
Avorturi spontane	32	42,7	20	40,0	38	45,2	32	53,3	$\chi^2=2.339$; gl=3; p>0,05

S-au obținut diferențe semnificative statistic între grupurile de studiu în raport cu bolile ginecologice care precedă și însoțesc un proces malign în corpul uterului.

Polipii canalului cervical și ai cavității uterine au fost depistați mai des în grupul de paciente de risc scăzut și de risc intermediar, cu diferență statistică semnificativă între loturi ($\chi^2=10,722$; $gl=3$; $p<0,05$) și ($\chi^2=24,408$; $gl=3$; $p<0,001$), respectiv, a fost observată diferență statistic semnificativă ($\chi^2=1,868$; $gl=3$; $p>0,05$).

Incidența miomului uterin a fost mai înaltă în grupurile pacientelor de risc intermediar-crescut și de risc crescut, 33,3% și 30,0% respectiv, cu o diferență statistic semnificativă ($\chi^2=8,011$; $gl=3$; $p<0,05$). Analizând incidența chisturilor ovariene diferență statistic semnificativ nu se atestă ($\chi^2=6,370$; $gl=3$; $p>0,05$). Eroziunea de col uterin s-a întâlnit mai frecvent în lotul de risc crescut – 35,0%, atestându-se o diferență statistic semnificativă între loturi ($\chi^2=17,932$; $gl=3$; $p<0,001$). Endometrioza a fost înregistrată mai frecvent la pacientele din loturile de risc intermediar-crescut și crescut, 28,6% și 25,0%, respectiv, cu diferență statistic semnificativă între loturi ($\chi^2=14,419$; $gl=3$; $p<0,01$). La studierea incidenței leucoplaziei și kraurozei vulvei diferență statistic semnificativă nu se atestă ($\chi^2=1,037$; $gl=3$; $p>0,05$) (Tabelul 3.11.).

Tabelul 3.11. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența patologiilor organelor sistemului reproductiv

Patologiile organelor sistemului reproductiv	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar- crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Mastopatia fibrochistică	23	30,7	23	46,0	33	39,3	30	50,0	$\chi^2=10,533$; gl=3; p>0,05
Ectropion colului uterin	7	9,3	10	20,0	10	11,9	21	35,0	$\chi^2=17,932$; gl=3; p<0,001
Boala inflamatorie pelvină	9	12,0	3	6,0	6	7,1	2	3,3	$\chi^2=3,898$; gl=3; p>0,05
Polip canalului cervical	4	5,3	7	14,0	2	2,4	1	1,7	$\chi^2=10,722$; gl=3; p<0,05
Polip cavității uterine	28	37,3	22	44,0	12	14,3	8	13,3	$\chi^2=24,408$; gl=3; p<0,001
Hiperplazia endometriului	39	52,0	23	46,0	36	42,9	25	41,7	$\chi^2=1,868$; gl=3; p>0,05
Endometrioză	11	14,7	2	4,0	24	28,6	15	25,0	$\chi^2=14,419$; gl=3; p<0,01
Miom uterin	11	14,7	12	24,0	28	33,3	18	30,0	$\chi^2=8,011$; gl=3; p<0,05
Chisturi ovariene	20	26,7	7	14,0	13	15,5	17	28,3	$\chi^2=6,370$; gl=3; p>0,05
Leucoplazia și krauroza vulvei	4	5,3	1	2,0	4	4,8	2	3,3	$\chi^2=1,037$; gl=3; p>0,05

În rezultatul datelor obținute putem concluziona următoarele: majoritatea morfologilor și oncologilor ginecologici consideră problemele patogeniei cancerului endometrial în strânsă legătură cu procesele hiperplazice ale endometrului. Se cunoaște că, procesele hiperplazice endometriale în cele mai multe cazuri sunt asociate cu tulburări hormonale [134].

Numeroase studii au dovedit, că procesele hiperplazice ale endometrului prezintă un risc sporit de transformare malignă [141]. Hiperplazia atipică, în special, se transformă în cancerul endometrioid în aproape 52% dintre cazuri [110].

Mulți autori indică comorbiditatea diferitelor patologii endometriale cu miom uterin și endometrioză [111]. Incidența fibromului uterin pe fondul CE este destul de mare și variază de la 16,2% la 64% [165]. Aproape jumătate dintre neoplasmele maligne ale endometrului sunt asociate cu miom uterin [140]. Conform Emons G. et al. (2000), CE, asociat cu miomul, aparține primei variante patogenetice. Polipii endometriali pe fundalul fibroamelor uterine sunt diagnosticați în 10-15%, hiperplazie endometrială tipică - în 13-63%, hiperplazie atipică - în 4-37%, endometrioză - în 22% dintre cazuri [49].

Datele noastre coincid cu datele literaturii și indică, că hiperplazia endometrială tipică pe fundalul fibroamelor uterine se dezvoltă, de obicei, în perioada reproductivă, iar cea atipică - în perioadele perimenopauzală și postmenopauzală.

3.2. Caracteristicile morfologice ale cancerului endometrial de stadiile I-II

Revizuirea detaliată a macro- și micropreparărilor a 269 de paciente cu cancer endometrial în stadiile I-II confirmat morfologic a făcut posibilă stratificarea pacientelor în conformitate cu criteriile de risc de recurență.

Pentru a determina grupul de risc la pacientele cu CE în conformitate cu criteriile ESGO, am folosit următoarele criterii:

- gradul de diferențiere a tumorii,
- adâncimea invaziei tumorale,
- prezența invaziei perilimfovasculare.

Dacă ne concentrăm doar pe aceste criterii, se poate observa că, în grupul de risc scăzut, crește frecvența metastazelor, precum și riscul de progresie a procesului după tratament.

Aceasta poate avea următoarea explicație: precizia insuficientă a factorilor morfologici predictivi, care dictează necesitatea studierii unor factori suplimentari, luând în considerare caracteristicile biologice ale cancerului endometrial.

Au fost analizate următoarele semne morfologice suplimentare ale CE:

- structura morfologică,
- localizarea în cavitatea uterină,
- invazia stromală a cervixului,
- gradul de diferențiere,
- adâncimea invaziei tumorale,
- prezența invaziei limfovasculare,
- prezența invaziei perineurale,
- prezența focarelor de necroză.

Pentru a determina subtipul histologic, toate adenocarcinoamele endometriale au fost repartizate în conformitate cu Clasificarea histologică internațională a tumorilor uterine a OMS, a două revizuire 2003.

Tumori maligne epiteliale

- Adenocarcinom endometrioid;
- Varianta cu metaplazia scuamocelulară;

- Varianta viloglandulară;
- Cu diferențiere scuamoasă;
- Secretor;
- Ciliat;
- Adenocarcinom seros papilar;
- Adenocarcinom cu celule clare;
- Adenocarcinom mucinos;
- Carcinom scuamos;
- Carcinom nediferențiat;
- Cu celule mari sau mici;
- Carcinom mixt

„Carcinomul mixt” este o tumoare compusă din mai multe subtipuri morfologice. Folosind clasificarea a OMS, tipul non-dominant de diferențiere trebuie să cuprindă cel puțin 10% din tumoare.

Clasificarea conform gradului de diferențiere histologică:

- Gx - nu s-a putut stabili;
- G1 - tumori bine diferențiate;
- G2 - tumori moderat diferențiate;
- G3 - tumori slab diferențiate și nediferențiate.

Determinarea microscopică a gradului de diferențiere a adenocarcinomului endometrioid a fost efectuată prin caracteristici arhitecturale și nucleare. Clasificarea conform gradului de diferențiere histologică FIGO a fost identificată ca fiind unul dintre cei mai importanți factori de prognostic pentru carcinomul endometrioid. Sistemul de clasificare conform gradului de diferențiere este o modificare a sistemului de gradare conceput de Grupul de Oncologi Ginecologi (GOG), și se bazează, în primul rând, pe aranjamentul arhitectural al celulelor neoplazice, care produc în mod caracteristic glande [7, 8]. Gradarea caracteristicilor arhitecturale s-a bazat pe raportul dintre zonele glandulare și solide din tumoră, excluzând structurile morulare sau focarele metaplaziei scuamoase.

Evaluarea endometrului de tip 1 și a adenocarcinomului (endometrioid și mucinos) a fost efectuat pe baza următoarelor criterii:

- adenocarcinom înalt diferențiat, sau gradul 1, este definit ca o tumoare formată din glande în care 50% din neoplasm sunt formate din structuri solide de celule neoplazice cu un tip solid de creștere;

- adenocarcinom moderat diferențiat, sau gradul 2, este o tumoare în care structurile solide ocupă 5-50%;
- adenocarcinom slab diferențiat, sau gradul 3, este o tumoare în care >50% din neoplasm sunt formate din structuri solide de celule neoplazice.

De asemenea, la toate pacientele, a fost determinată profunzimea invaziei tumorale în mm în stroma colului uterin și în miometru.

Profunzimea invaziei tumorale în miometru este un factor important de prognostic în carcinomul endometrioid. Acesta este singurul predictor independent de diseminare hematogenă de carcinom endometrial și, prin urmare, determină tactica tratamentului ulterior al cancerului. Din acest motiv, în condițiile în care joncțiunea endometrial-miometrială nu este rectilinie și grosimea miometrului este variabilă pe diferite porțiuni ale uterului, se impune un grad înalt de precizie la secționare, și este necesară o abordare multilaterală în procesul de orientare, care este posibilă doar în condițiile păstrării integrității anatomice a uterului în timpul manipulărilor chirurgicale.

Grosimea tumorii, adâncimea invaziei tumorale în țesutul subiacent al miometrului și/sau stroma colului uterin a fost determinată la măsurarea adâncimii invaziei, luând nivelul de localizare a suprafeței membranei mucoase normale a ecto- și endocervixului ca punct de plecare, adică componenta exofitică a tumorii nu a fost luată în considerare, iar la măsurarea adâncimii invaziei în miometru, nivelul marginii dintre endometrul normal și miometru a fost luat ca punct de plecare de referință. Focarele și complexe țesutului tumoral cele mai îndepărtate de suprafața mucoasei, incluzând emboli în lumenii vaselor de sânge și limfatice ale stromei cervicale și țesutului miometrial au fost punctul final al măsurării profunzimii invaziei.

Alți parametri supuși evaluării morfologice și statistice au fost:

- 1) invazia tumorală în miometru;
 - a) infiltrativă
 - b) extinsă
- 2) invazia tumorii în stroma cervicală;
 - a) invazia numai în limitele mucoasei fără invazie în stroma
 - (1) strat continuu
 - (2) ca implanturi separate
 - (i) 2.1 - unic
 - (ii) 2.2 -multiplu
 - b) infiltrarea atât a membranei mucoase cât și a stromei
 - c) infiltrarea numai a stromei canalului cervical, fără afectarea mucoasei.

De asemenea, s-a determinat prezența sau absența invaziei tumorale în vasele limfatice și sanguine din stroma colului uterin și a miometrului - adică existența spațiilor delimitate de endoteliu și care conțin complexe de celule canceroase. Invazia limfovasculară în miometru a fost demonstrată de a fi un factor independent de prognostic în adenocarcinoame endometrioide. Invazia este o constatare mai puțin frecventă în carcinomul de tip endometrioid și mult mai frecventă în celelalte tipuri de carcinom, care sunt mai agresive (seros, cu celule clare).

Extinderea carcinomului endometrioid în colul uterin este asociată cu un prognostic nefavorabil, în comparație cu carcinomul localizat în limitele corpului uterin. Tumorile care infiltrează colul uterin au mai mulți factori de prognostic cunoscuți, cum ar fi morfologia agresivă, invazia mai profundă în miometru, o rată mai mare de invazie limfovasculară și perineurală spre deosebire de tumorile limitate la corpul uterin.

În rezultatul examenului histopatologic al 269 cazuri de histerectomii cu salpinge-ooforectomii, s-a constatat că la majoritatea pacientelor cu CE în stadiile I-II în 147 cazuri (55,0%), tumoarea primară a ocupat întreaga cavitate uterină fără invazie în stroma cervicală. La 31 (28,5%) paciente, tumora a fost localizată în treimea inferioară a corpului uterului fără sau cu invazie în stroma cervicală. La 18 (16,5%) paciente tumora a fost localizată în fundul uterului și/sau unghiurile tubare și/sau pereții uterului.

Analizând rezultatele obținute, cancer endometrial cu tumoră răspândită în miometru până la 50% (stadiul IA) a fost observată la 77 (28,6%; ÎI 95% [23,0-34,2]) paciente, cu invazia în miometru mai mult de 50% (stadiul IB) în 128 (47,6%; ÎI 95% [41,3-53,5]) paciente cu extindere în colul uterin (stadiul II) la 64 (23,8%; ÎI 95% [18,7-28,9]) bolnave.

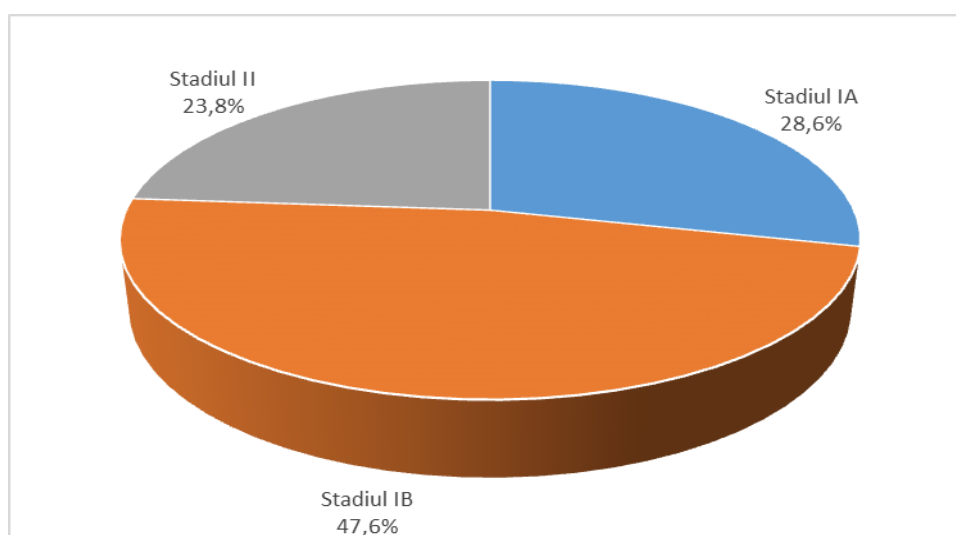


Fig. 3.1. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

CE în stadiul II cu extinderea procesului tumoral numai în glandele endocervicale a fost determinat de aproape 4,5 ori mai frecvent la 36 (13,4%; ÎI 95% [9,7-17,8]) paciente decât cu invazie în stroma cervicală - la 8 (3,0%; ÎI 95% [1,1-5,2]) paciente.

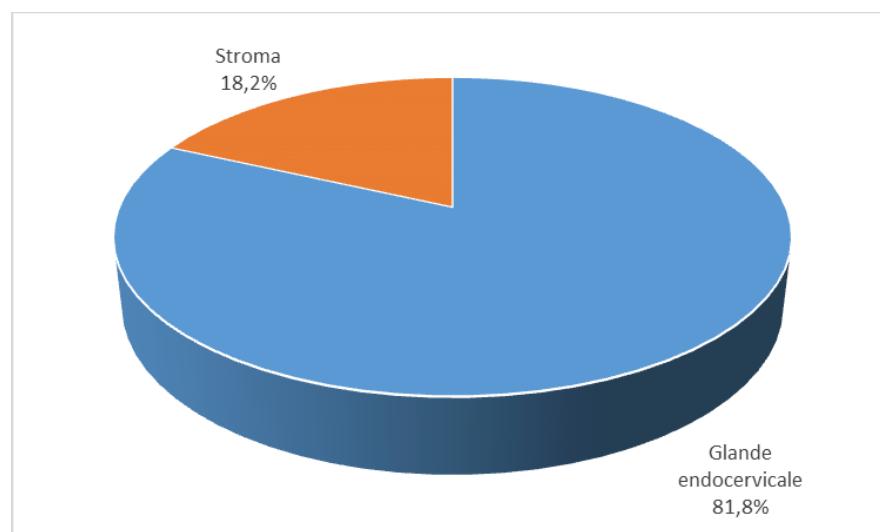


Fig. 3.2. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiul II în funcție de invazia în canalul cervical

Tumorile primare de dimensiuni până la 2 cm s-au întâlnit mai frecvent la pacientele în stadiul IA, iar cele peste 5 cm la pacientele în stadiul IB sau II. Între grupuri se atestă o diferență statistic semnificativă ($\chi^2=30,109$; $gl=4$; $p<0,001$).

Tabelul 3. 12. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de dimensiunea tumorii primare

Dimensiunea tumorii primare	Stadiul IA		Stadiul IB		Stadiul II		P
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Până la 2 cm	21	20,2	6	5,4	2	3,7	$\chi^2=30,109$; $gl=4$; $p<0,001$
De la 2 până 5 cm	82	78,8	88	79,3	41	75,9	
Mai mult de 5 cm	1	1,0	17	15,3	11	20,4	

Așadar, CE în stadiul IA, dimensiunea tumorii primare până la 2 cm, a fost aproape de două ori mai frecvent (20,2%) comparativ cu stadiul IB (5,4%). În timp ce o tumoare mai mare de 5 cm în stadiul IA a fost depistată de 11 ori mai rar decât în stadiul II (1,0% și, respectiv, 20,4%).

În descrierea stadiului IA al CE am folosit termenul clinic „cancer endometrial minim”, care îndeplinea trei condiții obligatorii:

1) dimensiunea minimă a neoplasmului (diametrul până la 2 cm, adâncimea invaziei până la 0,5 cm);

2) potență scăzută pentru metastaze în ganglionii limfatici regionali ai pelvisului și ovarelor;

3) rate ridicate de supraviețuire la 5 ani.

Aceste criterii pentru cancerul minim au fost adoptate în baza clasificării cancerului endometrial minim de către Maksimov S.Ya.:

1) cancer intraendometrial: invazia este limitată la stromă, inclusiv observații de creștere multicentrică;

2) cancer microinvaziv: diametrul tumorii până la 2 cm, invazia în miometru până la 0,5 cm, cu excepția observațiilor de creștere multicentrică.

Din punct de vedere morfologic, termenul clinic de cancer minim este eterogen: include două grupuri de observații: cancer intraendometrial - în 15 (5,6%; ÎI 95% [2,8-8,3]) cazuri, cancer microinvaziv - în 22 (8,2%; ÎI 95% [4,9-11,5]) cazuri. Nu există legitate la concentrația CE minim la o vârstă mai mică.

De asemenea, trebuie de remarcat predominanța cancerului endometrial minim la pacientele din grupul de risc scăzut - 17 (22,7%; ÎI 95% [13,2-32,1]) cazuri cu diferență statistică semnificativă ($\chi^2=29,141$; $gl=3$; $p<0,001$), precum și a cancerului în limitele endometrului - 10 (13,3%; ÎI 95% [5,6-21,0]) cazuri ($\chi^2=12,892$; $gl=3$; $p<0,01$). Predominanța tumorilor hormonal dependente la pacientele cu CE minim determină evoluția clinică favorabilă a acestuia.

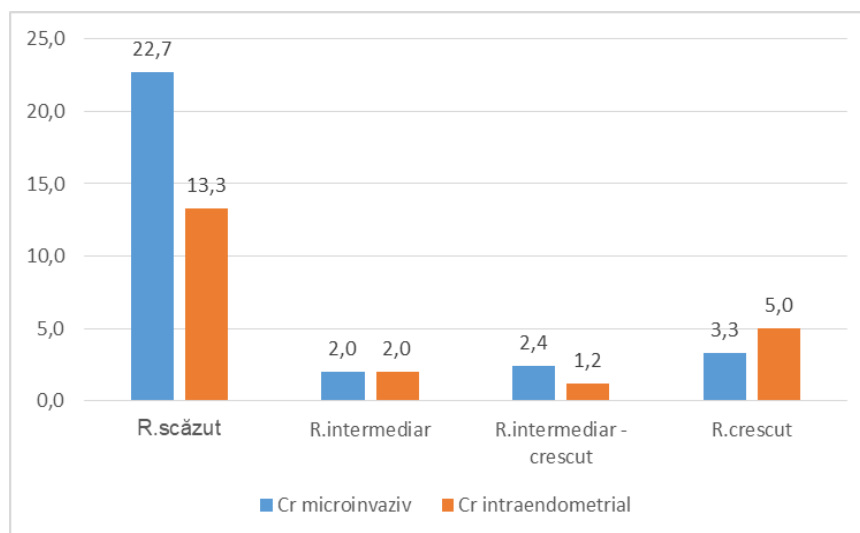


Fig. 3.3. Repartizarea pacientelor cu cancer endometrial minim în funcție de grupul de risc

Dacă ne referim la dimensiunile uterului am obținut următoarele rezultate: doar la 4 (5,3%; ÎI 95% [4,5-7,1]) paciente cu CE din grupul de risc scăzut au fost înregistrate dimensiuni normale ale uterului, în 18 (24,0%; ÎI 95% [21,5-32,1]) cazuri a existat o creștere a dimensiunii uterului,

respectiv la 5-6 săptămâni de gestație, și la 52 (69,3%; ÎI 95% [65,4-73,3]) paciente la 7-10 săptămâni de gestație. Dimensiunile uterului cu peste 10 săptămâni de gestație au fost înregistrate la 12 (20%; ÎI 95% [18,4-29,3]) paciente din grupul de risc crescut și la 14 (16,7%; ÎI 95% [14,7-17,3]) paciente din grupul de risc intermediar-crescut.

Tabelul 3.13. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu dimensiunile uterului

Dimensiunile uterului	Risc scăzut		Risc intermediar		Risc intermediar-crescut		Risc crescut	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Norma	4	5,3	-	-	-	-	-	-
5-6 săptămâni de gestație	18	24,0	2	4,0	8	9,5	1	1,7
7-10 săptămâni de gestație	52	69,3	42	84,0	60	71,4	47	78,3
Mai mult de 10 săptămâni de gestație	1	1,3	6	12,0	14	16,7	12	20,0

Între loturi se atestă o diferență statistic semnificativă ($\chi^2=37,391$; $gl=9$; $p<0,001$).

Prin urmare, pacientele cu CE au fost distribuite în următorul fel: dimensiunile normale ale uterului s-au înregistrat doar la pacientele din grupul de risc scăzut, în timp ce dimensiunile mărite ale uterului s-a prezentat la majoritatea pacienților din grupurile de risc crescut și intermediar-crescut.

Au fost relevate o serie de trăsături morfologice caracteristice cancerului de corp uterin în stadiile I-II. Tabelul 3.14 prezintă datele privind repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II, luând în considerare structura histologică a tumorii.

Tabelul 3.14. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de forma morfologică

Forma morfologică	IA		IB		II		P
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Adenocarcinom endometrial	95	91,3	92	82,9	44	81,5	($\chi^2=4,245$; $gl=2$; $p>0,05$)
Adenocarcinom endometrial cu metaplazia scuamocelulară	-	-	6	5,4	-	-	($\chi^2=8,735$; $gl=2$; $p<0,05$)
Adenocarcinom clarocelular	-	-	2	1,8	1	1,9	($\chi^2=1,913$; $gl=2$; $p>0,05$)
Carcinom mixt	-	-	2	1,8	-	-	($\chi^2=2,238$; $gl=2$; $p>0,05$)
Adenocarcinom papilar seros	8	7,7	8	7,2	8	14,8	($\chi^2=2,903$; $gl=2$; $p>0,05$)

La 231 (85,9%; ÎI 95% [81,7-90,0]) paciente cu CE a fost diagnosticat adenocarcinom endometrial de diferit grad de diferențiere, 6 (2,2%; ÎI 95% [0, 5-4,0]) paciente au avut adenocarcinom endometrial cu metaplazie scuamoasă.

Forme histologice rare de cancer de corp uterin au fost diagnosticate la 29 (10,8%; ÎI 95% [7,1-14,5]) paciente, dintre care 3 (1,1%; ÎI 95% [0,0-2, 4]) paciente aveau adenocarcinom cu celule clare, în 2 (0,7%; ÎI 95% [0,0-1,8]) cazuri s-a depistat carcinom cu celule scuamoase glandulare, la 24 (8,9%; ÎI 95% [5,5-12,3]) paciente - adenocarcinom papilar seros.

La analiza datelor privind repartizarea pacientelor cu CE în stadiul I, luând în considerare structura morfologică, trebuie remarcată apariția relativ rară de forme histologice rare (adenocarcinom cu celule clare, carcinom cu celule scuamoase glandulare, adenocarcinom papilar seros și adenocarcinom mucinos), în timp ce la pacientele cu CE în stadiul II am observat o apariție destul de frecventă a formelor histologice rare - 9 (3,3%; ÎI 95% [1,2-5,5]) cazuri.

În carcinoamele endometriale de tip seros a fost frecvent prezentă configurația papilară, cu arii solide și stratificare epitelială. Celulele tumorale au prezentat nuclei pleomorfi, hipercromi, cu macronucleoli eozinofili (grad nuclear 3) (Figura 3.4).

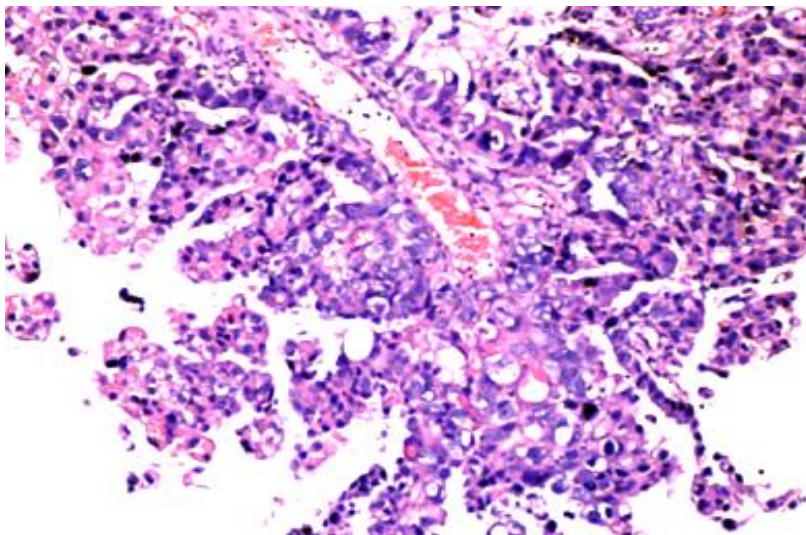


Fig. 3.4. Carcinom endometrial de tip seros, HE, ob x 10

În 2 cazuri am identificat arii tumorale cu aspect secretor, dar care nu au avut decât aspect focal și au fost însoțite de infiltrare cu celule spumoase de natură macrofagică (Figura 3.5).

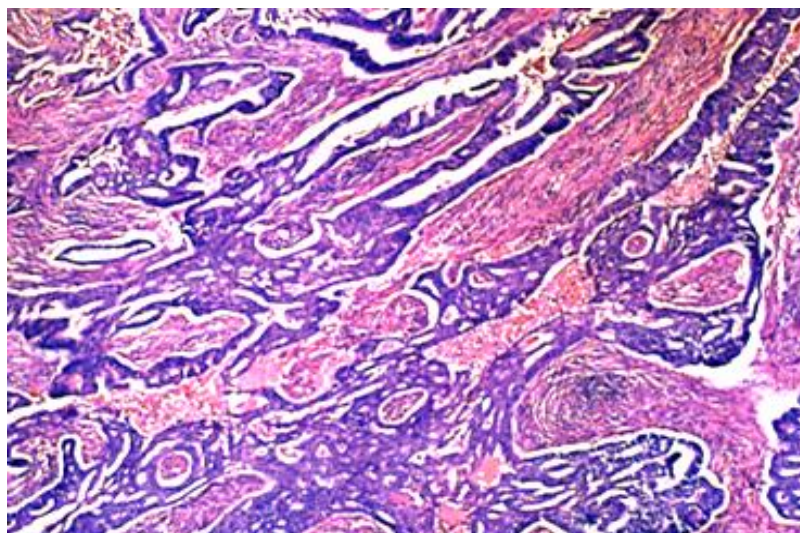


Fig. 3.5. Carcinom endometrial secretor cu infiltrare cu celule spumoase, HE, ob x 4

Am identificat o serie de trăsături morfologice caracteristice la pacientele cu CE în stadiile I-II, în funcție de grupul de risc (Tabelul 3.15.).

Tabelul 3.15. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu forma morfologică

Forma morfologică	Grupul de risc								P gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Adenocarcinom endometrial	70	93,3	46	92,0	69	82,1	46	76,7	($\chi^2=10,144$; $p>0,05$)
Adenocarcinom papilar seros	4	5,3	-	-	12	14,3	8	13,3	($\chi^2=10,498$; $p<0,05$)
Adenocarcinom endometrial cu metaplazia scuamocelulară	-	-	3	6,0	2	2,4	1	1,7	($\chi^2=5,065$; $p>0,05$)
Adenocarcinom claro celular	-	-	-	-	1	1,2	2	3,3	($\chi^2=4,091$; $p>0,05$)
Carcinom mixt	-	-	-	-	-	-	2	3,3	($\chi^2=7,019$; $p>0,05$)

Atunci când se analizează datele privind repartizarea pacientelor cu CE în grupul de risc scăzut, ținând cont de structura morfologică, trebuie remarcată apariția relativ rară de forme histologice rare (adenocarcinom cu celule clare, carcinom cu celule scuamoase glandulare, adenocarcinom papilar seros), în timp ce la pacientele cu CE din grupurile de risc crescut și intermediar-crescut, am observat o apariție destul de frecventă de forme histologice rare.

Prezintă interes faptul, că la pacientele din grupul de risc crescut în timpul extinderii CE în canalul cervical, fiecare a patra pacientă a fost diagnosticată cu adenocarcinom cu metaplazie a celulelor scuamoase.

Studiile noastre au arătat, că adenocarcinomul seros-papilar, o variantă destul de rară a CE, caracterizat printr-un grad sporit de malignitate, apare de aproape 3 ori mai des la pacientele din grupul de risc crescut în vârstă reproductivă. Aceeași tendință poate fi observată la pacientele la care adenocarcinomul endometrioid a fost asociat cu metaplazie cu celule scuamoase (12,5% față de 6,3%). Luând în considerare numărul mic de observații, nu putem efectua o concluzie în cazul dat.

De asemenea, am observat că la pacientele din grupul de risc crescut au fost diagnosticate cel mai des cele mai agresive tipuri histologice de cancer de corp uterin: adenocarcinom cu celule seroase și adenocarcinom cu celule clare, care s-au dezvoltat mai des la pacientele cu infertilitate în anamneză (45,9%) și (5,0%), în comparație cu pacientele cu funcție reproductivă păstrată (10,2%, respectiv, 2,5%).

La femeile perimenopauzale, adenocarcinomul seros a apărut de 3,5 ori mai des la pacientele fără antecedente de infertilitate (12,4% și, respectiv, 4,1%). Adenocarcinomul cu celule clare a fost înregistrat doar la 10 paciente cu funcția reproductivă păstrată. Astfel de date nu contrazic datele noastre privind creșterea frecvenței endometrului atrofic, ca fundal pentru dezvoltarea carcinomului, la pacientele cu vârsta peste 55 de ani. Se cunoaște, că carcinomul seros apare în mai mult de 90% dintre cazuri pe fondul endometrului atrofic [56].

Astfel, la pacientele cu antecedente de infertilitate aflate în perioada reproductivă și postmenopauzică combinația frecventă a celor mai agresive subtipuri histologice de tumori: adenocarcinomul cu celule seroase și clare, sugerează influența nu numai a factorilor metabolici endocrini, cât și a altor factori patogeni: boli inflamatorii cronice ale organelor genitale și influența mecanismelor genetice [85].

Conform numeroaselor studii, la pacientele în vârstă reproductivă CE se dezvoltă pe fondul endometrului hiperplastic [134]. Cu toate acestea, există opinia, că în unele cazuri un proces malign poate apărea într-un endometru atrofic [8].

Adenocarcinomul endometrial înalt diferențiat a fost diagnosticat la 60 (80,0%; ÎI 95% [70,9-89,1]) paciente din grupul de risc scăzut, adenocarcinomul moderat diferențiat - la 12 (16,0%; ÎI 95% [7,7-24,3]) paciente. În grupul pacientelor de risc intermediar adenocarcinomul endometrial înalt diferențiat predomină la 26 (52,0%; ÎI 95% [38,2-65,8]) paciente, adenocarcinomul de grad moderat - la 22 (44,0%; ÎI 95% [30,2-57,8]) paciente.

În grupul de risc intermediar-crescut adenocarcinomul endometrial înalt diferențiat a fost diagnosticat la 22 (26,2%; Î 95% [16,8-35,6]) paciente, adenocarcinomul de grad moderat și scăzut - la 48 (57,1%; Î 95% [46,6-67,7]) paciente și, respectiv, 12 (14,3%; Î 95% [6,8-21,8]) paciente.

În grupul de risc crescut adenocarcinomul endometrioid de grad scăzut predomină la 57 (95,0%; Î 95% [89,5-100,0]) paciente, adenocarcinomul moderat și înalt diferențiat - la 3 (3,3%; Î 95% [0,0-7,9]) paciente și, respectiv, 1 (1,7%; Î 95% [0,0-4,9]) pacientă (Tabelul 3.16.).

Tabelul 3.16. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu gradul de diferențiere tumorală

Gradul de diferențiere tumorală	Grupul de risc								P gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar -crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Înalt	60	80,0	26	52,0	22	26,2	2	3,3	($\chi^2=92,539$; p<0,001)
Moderat	12	16,0	22	44,0	48	57,1	1	1,7	($\chi^2=62.975$; p<0,001)
Scăzut	-	-	-	-	12	14,3	57	95,0	($\chi^2=200,122$; p<0,001)

Adâncimea invaziei în miometru are un aspect important asupra evoluției clinice a CE. În studiul nostru invazia în miometru este absentă la 21 paciente în 8% cazuri. Astfel de tumori pot fi înlăturate complet în timpul chiuretajului diagnostic al cavității uterine și, atunci când se examinează uterul extirpat, tumoarea nu se determină în specimen. În astfel de cazuri, speciemenle histologice ale chiuretajului diagnostic trebuie revizuite. Dacă concluzia inițială este recunoscută ca fiind corectă, atunci clinicianul are toate motivele pentru a diagnostica cancerul endometrial în stadiul IA.

Adâncimea invaziei în miometru poate fi superficială și profundă, poate să se extindă până la membrana seroasă a uterului.

Există diferite metode pentru determinarea adâncimii invaziei în miometru: în raport cu grosimea uterului (1/3, 2/3, întregul miometru) sau prin măsurarea gradului de infiltrare - până la 1 cm, mai mult de 1 cm, întregul miometru, membrana seroasă. Adâncimea invaziei tumorale în miometru în stadiul II a variat de la 0 mm la 26 mm și a avut în medie $8,4 \pm 0,54$ mm.

Analizând repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II, luând în considerare profunzimea invaziei tumorii în miometru, s-a constatat că creșterea tumorii în endometru a avut loc la 15 (5,6%; Î 95% [2,8-8,3]) paciente, până la 50% din miometru - la 77 (28,6%; Î 95% [23,2-34,0]) paciente, peste 50% din miometru - la 127 (47,2%; Î 95% [41,2-53,2]) paciente; și răspândirea în toată

grosimea miometrului - la 17 (6,3%; ÎI 95% [3,4-9,2]) paciente. Invazia mai mult de 50% în miometru a avut loc în 53,5% dintre cazuri. La pacientele din grupul de risc scăzut, profunzimea invaziei până la 50% din miometru a fost observată cel mai des – 49 (65,3%; ÎI 95% [54,6-76,1] cazuri, adâncimea invaziei doar în limitele endometrului - la 10 (13,3%; ÎI 95% [5,6-21,0] paciente. La pacientele de risc crescut, invazia de peste 50% a fost observată la 38 (63,3%; ÎI 95% [41,4-53,4] paciente, iar la 4 dintre paciente (6,7%; ÎI 95% [0,4-13,0]) tumoarea a infiltrat toată grosimea uterului (Tab 3.17).

Tabelul 3.17. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de profunzimea invaziei tumorale

Profunzimea invaziei tumorale	Grupul de risc								P, gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar -crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
În limitele endometrului	10	13,3	1	2,0	1	1,2	3	5,0	$\chi^2=12,892$; p<0,01
Infiltrează <50% în miometru	49	65,3	2	4,0	16	19,0	10	16,7	$\chi^2=72,276$; p<0,001
Infiltrează >50% în miometru	-	-	47	94,0	42	50,0	38	63,3	$\chi^2=200,122$; p<0,001
Toată grosimea miometrului	-	-	-	-	13	15,5	4	6,7	$\chi^2=200,122$; p<0,001

De asemenea, în timpul examinării microscopice a specimenului, a fost determinată profunzimea invaziei tumorale în colul uterin. Adâncimea invaziei în stroma cervicală a variat: de la 0 mm la 19 mm și a avut în medie $6,6 \pm 0,46$ mm. Repartizarea pacienților din grupul de risc crescut în funcție de profunzimea invaziei în stroma colului uterin este prezentată în figura 3.4.

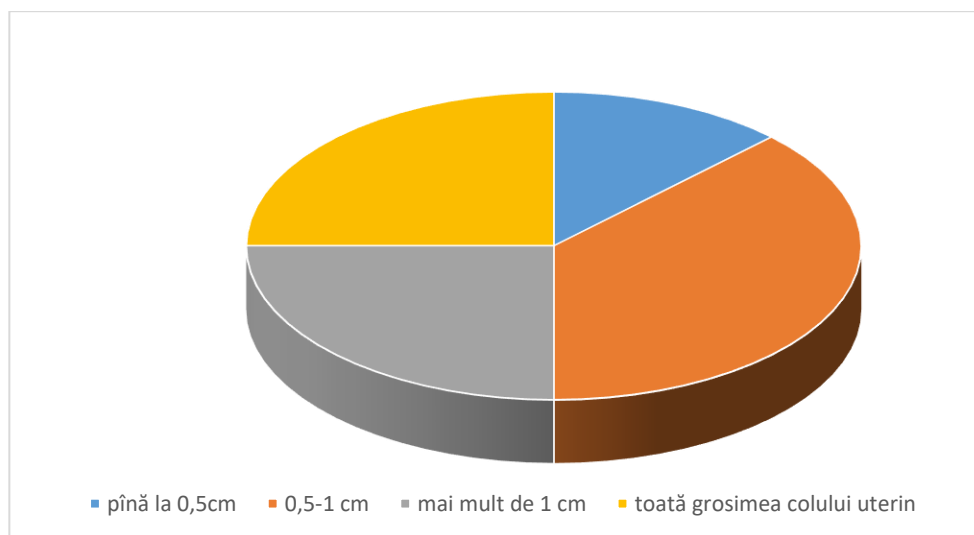


Fig. 3.6. Repartizarea pacienților de risc crescut în funcție de profunzimea invaziei în stroma cervicală

La evaluarea profunzimii invaziei tumorale în stroma colului uterin, s-a constatat că, la 3 paciente tumoarea a fost limitată la adâncimea invaziei de 0,5 cm în colul uterin. Invazia la o adâncime de la 0,5 până la 1 cm a fost înregistrată în majoritatea cazurilor (30%), mai mult de 1 cm - la 2 paciente (20%), și răspândirea leziunii până la membrana seroasă a colului uterin - la 2 paciente (20%).

Noi am studiat prezența sau absența invaziei perilimfovasculare la pacientele cu CE în stadiile I-II. Prezența invaziei limfovasculare în miometru a fost diagnosticată la 47 (78,3%; ÎI 95% [41,4-53,4]) paciente din grupul de risc crescut și, respectiv, 13 (39,4%; ÎI 95% [5,6-19,0]) paciente nu au avut această caracteristică morfologică.

Tabelul 3.18. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența invaziei limfovasculare în miometru

Prezența invaziei limfovaskulare în miometru	Grupul de risc								P, gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar -crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Prezentă	35	46,6	40	47,6	41	82,0	47	78,3	$\chi^2=12,892$; p<0,01
Absentă	40	53,3	44	52,3	9	18,0	13	39,4	$\chi^2=72,276$; p<0,001

Analizând repartizarea pacientelor în grupul de risc scăzut și intermediar prezența invaziei limfovasculare în miometru a fost depistată preponderent egal în ambele grupuri, fața de grupul de risc intermediar-crescut, unde invazia în spațiile limfovasculare din miometru a fost diagnosticată la 41 (82,0%; ÎI 95% [74,6-96,1]) paciente și absentă la 9 (18,0%; ÎI 95% [5,6-14,7]) paciente.

Evaluând datele privind repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II, în funcție de prezența focarelor de necroză în tumoră, trebuie remarcat faptul că această caracteristică morfologică a fost prezentă la o treime (32,1%) dintre paciente. Cel mai des, zonele de necroză au fost găsite în adenocarcinoame slab diferențiate, cu un caracter infiltrativ de invazie (Tabelul 3.19.).

Tabelul 3.19. Repartizarea pacientelor cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, corelată cu prezența focarelor de necroză

Focare de necroză	Grupul de risc								P, gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar -crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Prezente	10	13,3	1	2,0	1	1,2	41	68,3	$\chi^2=12,892$; p<0,01
Absente	55	65,3	2	4,0	16	19,0	19	31,7	$\chi^2=72,276$; p<0.001

Analizând repartizarea pacienților conform prezenței focarelor de necroză în tumoră am obținut următoarele date: focare de necroză preponderant au fost depistate la pacienți din grupul de risc crescut în 41 (68,3%; ÎI 95% [54,6-76,1]) cazuri și doar la 10 (13,3%; ÎI 95% [8,1-12,6]) pacienți din grupul de risc scăzut.

3.3. Inflamația sistemică ca predictor al cancerului endometrial în stadiile I-II

O tumoră malignă este un sistem extrem de dinamic, care ar trebui luat în considerare în combinație cu toate componentele clinice și morfologice și care formează microbiomul său (celule stromale, celule ale sistemului imun, sânge, vase limfatice și matrice extracelulară) și care determină răspunsul general al corpului pacientului la procesul tumoral [2, 7]. Stabilirea interdependenței dintre evoluția CE cu modificările sistemului imun prezintă o problemă importantă în patogenia acestor maladii.

Sistemul imun și celulele, care infiltrează tumora reprezintă subiectul unui studiu activ [1, 4, 12], deoarece joacă un rol cheie în formarea imunității antitumorale. Varietatea subpopulațiilor de celule imune, precum și principalele produse ale sintezei lor și modalitățile de interacțiune, pot explica posibilele lor mecanisme de acțiune diametral opuse: de la activarea căilor de apărare antitumorală la potențarea progresiei bolii.

În plus, există date în literatură care indică faptul că inflamația cronică este factorul de risc de dezvoltare a tumorii și progresia acesteia [3].

Analiza literaturii din ultimii ani a arătat valoarea de prognostic a indicilor inflamatori sistemici pe baza calculării raportului neutrofilelor, limfocitelor și trombocitelor din sângele periferic al pacienților cu cancer colorectal [9], cancer gastric [5, 10] și hepatocelular [6], care permite utilizarea acestor indicatori în practica clinică în etapa de planificare a tratamentului complex al pacienților cu neoplasme maligne, precum și identificarea semnelor de recidivă a bolii cât mai devreme posibil.

Modificări ale parametrilor sângelui periferic la pacienții cu CE în stadiile I-II

În patogeniza unui neoplasm malign, există o modificare a compoziției celulare a sângelui, în special a leucocitelor. Este cunoscut faptul că leucocitele joacă un rol important în neoplasmele maligne. S-a demonstrat că leucocitele pot fi celule efectoare active cu funcții antitumorale [8]. Diversi compuși citotoxici pot distruge celulele maligne, iar citokinele și chemokinele secretate de leucocite pot activa și alte celule cu activitate antitumorală [5, 7, 9].

Limfocitele și trombocitele promovează transformarea mezenchimală epitelială a celulelor tumorale din focarul primar. În fluxul sanguin, trombocitele și componentele sistemului de

coagulare asigură supraviețuirea celulelor tumorale, protejându-le de recunoașterea de către celulele imune citotoxice [6, 7]. Trombocitele activate promovează extravazarea celulelor tumorale și induc neoangiogeneza [8]. Concentrația trombocitelor reflectă severitatea răspunsului inflamator sistemic indus de tumoare.

Analiza parametrilor sângelui periferic a arătat următoarele: la pacientele din grupul de risc crescut nivelul leucocitelor din sângele periferic a variat de la 1,75 la 10,51 x 10⁹/l, media a fost de 4,53±0,26 x 10⁹/l. Numărul de leucocite peste 8,0 x 10⁹/l a fost înregistrat la pacientele din grupul de risc scăzut statistic semnificativ mai des de 20 ori comparativ cu grupul de risc crescut. Numărul de leucocite în intervalul 4-7 x 10⁹/l a fost observat la pacientele din grupul de risc crescut mai rar cu 14,2% decât în grupul de risc scăzut (Tabelul 3.20.).

Tabelul 3.20. Repartizarea valorilor leucocitelor la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Concentrația leucocitelor, x10 ⁹ /l	Grupul de risc								P, gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Până la 4	-	-	6	7,2	8	16,0	37	61,7	(χ ² =92,539; p<0,001)
4-7	15	20,0	22	26,2	30	60,0	10	16,3	(χ ² =62,975; p<0,001)
8 și mai mult	60	80,0	56	66,6	12	24,0	3	5,0	(χ ² =200,122; p<0,001)

La pacientele cu CE din grupul de risc scăzut numărul de limfocite în intervalul 20-39% a fost înregistrat mai des de 2 ori comparativ cu pacientele din grupul de risc crescut, unde intervalul 20-39% a fost înregistrat la 10 paciente. La pacientele cu CE din grupul de risc scăzut numărul de limfocite 40% și mai mult a fost înregistrat mai des de 12 ori comparativ cu pacientele din grupul de risc crescut, unde concentrația limfocitelor mai mult de 40% a fost înregistrată doar la 3 paciente.

Tabelul 3.21. Repartizarea valorilor limfocitelor la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Concentrația limfocitelor, %	Grupul de risc								P, gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar -crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Până 20	-	-	6	7,2	8	16,0	37	61,7	($\chi^2=92,539$; p<0,001)
20-39	25	33,3	22	26,2	30	60,0	10	16,3	($\chi^2=62.975$; p<0,001)
40 și mai mult	50	66,7	56	66,6	12	24,0	3	5,0	($\chi^2=200,122$; p<0,001)

Concentrația de trombocite sub $200 \times 10^9/l$ a fost semnificativ statistic mai des de 20 ori în grupul de pacienți cu risc crescut decât în grupul de risc crescut, iar concentrația trombocitelor în intervalul $400 \times 10^9/l$ și mai mult a fost înregistrată în grupurile de risc crescut și intermediar-crescut, respectiv, la 37 (61,7%; ÎI 95% [54,6-76,1]) și 30 (60,0%; ÎI 95% [55,7-66,1]) pacienți (Tabelul 3.22.).

Tabelul 3.22. Repartizarea valorilor trombocitelor la pacienții cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Concentrația trombocitelor, x10 ⁹ /l	Grupul de risc								P gl=3
	Scăzut		Intermediar		Intermediar -crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Până 200	60	80,0	6	7,2	8	16,0	3	5,0	(χ ² =92,539; p<0,001)
200-399	15	20,0	56	66,6	12	24,0	10	16,3	(χ ² =62,975; p<0,001)
400 și mai mult	-	-	22	26,2	30	60,0	37	61,7	(χ ² =200,122; p<0,001)

Analizând markerii inflamației la pacienții cu CE în raport cu valorile de referință ale normei (niveluri de neutrofile $2-6,85 \times 10^9/l$, limfocite $1,10-3,20 \times 10^9/l$, trombocite $180-320 \times 10^9/l$), s-a depistat că 156 (58%) pacienți au avut un număr normal de neutrofile, limfocite și trombocite.

În același timp, s-a observat că în grupul de risc crescut și intermediar-crescut numărul pacienților cu deviație a concentrației de leucocite de la normă a fost semnificativ mai mare decât în grupul de risc scăzut. Valori ale concentrației de leucocite, limfocite și trombocite au fost crescute în grupul de risc crescut. Aceste constatări reflectă că leucocitele, limfocitele și trombocitele potențează severitatea răspunsului inflamator sistemic indus de tumoare.

Pentru a identifica valoarea de prognostic a markerilor clinici de inflamație, am calculat următoarele rapoarte (pe baza rezultatelor unui test clinic de sânge în etapa inițială de evaluare) (Tabelul 3.23.).

1) Indicele neutrofile/limfocite (INL), care a fost calculat ca raportul dintre numărul absolut de neutrofile și numărul absolut de limfocite din sângele periferic,

2) Indicele trombocite/limfocite (ITL), care a fost calculat ca raportul dintre numărul absolut de trombocite și numărul absolut de limfocite din sângele periferic,

Pentru a evalua valoarea predictivă a INL și ITL pentru timpul mediu până la progresie, am folosit valorile prag ale acestor indici: deoarece valorile minime au fost alese 2,33 pentru INL, și 155,70 pentru ITL, valoarea pragului maxim pentru INL a fost 5,0.

Tabelul 3.23. Rezultatele analizei markerilor clinici ai inflamației la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Indicele relativ al sângelui	Grupul de risc				P gl=3
	Scăzut	Intermediar	Intermediar-crescut	Crescut	
	Mediana	Mediana	Mediana	Mediana	
INL	2,29	2,39	2,46	5,34	$\chi^2=12,892$; $p<0,01$
ITL	120,19	124,0	147,1	355,7	$\chi^2=72,276$; $p<0,001$

Analizând valorile indicilor relativi ai sângelui am obținut următoarele date: în grupul de risc crescut indicele neutrofile/limfocite a variat de la 0,65 la 7,22, valoarea sa medie fiind de $2,34\pm 0,18$; indicele trombocite/limfocite a variat de la 55,03 la 428,10, valoarea sa medie fiind de $155,70\pm 10,12$.

Calculul indicilor relativi la pacientele din grupul de risc intermediar-crescut a arătat următoarele rezultate: indicele neutrofile/limfocite a variat de la 0,65 la 7,22, valoarea sa medie fiind de $2,34\pm 0,18$; indicele trombocite/limfocite a variat de la 55,03 la 428,10, valoarea sa medie fiind de $155,70\pm 10,12$.

Calculul indicilor relativi la pacientele din grupul de risc intermediar a arătat următoarele rezultate: indicele neutrofile/limfocite a variat de la 0,65 la 7,22, valoarea sa medie fiind de $2,34\pm 0,18$; indicele de trombocite-limfocite a variat de la 55,03 la 428,10, valoarea sa medie fiind de $155,70\pm 10,12$.

Indicele neutrofile/limfocite la pacientele din grupul de risc scăzut a variat de la 0,65 la 7,22, valoarea sa medie fiind de $2,34\pm 0,18$. Indicele trombocite/limfocite a variat de la 55,03 la 428,10, valoarea sa medie fiind de $155,70\pm 10,12$.

3.4. Concluzii la capitolul 3

1. În rezultatul studiului complex la 269 paciente cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc, au fost identificate principalele caracteristici clinice și morfologice ale cancerului endometrial.

2. Au fost relevate o serie de semne clinice nefavorabile la pacientele cu CE în stadiile I-II: vârsta peste 60 de ani, stadiul bolii, dereglările ciclului ovarian-menstrual cu predominanța menometroragiilor, menarha precoce, vârsta menopauzei precoce, infertilitatea.

3. Au fost relevate o serie de semne morfologice caracteristice cancerului de corp uterin la pacientele din grupul de risc crescut. Acestea includ apariția relativ frecventă a formelor

histologice rare: celule clare, celule scuamoase glandulare, cancer papilar și mucinos seros (16,5%), în special la paciențele cu stadiul II (18,2%), invazia mai mult de 50% în miometru, adâncimea de invazie a tumorii în miometru >1 cm și în stromă >0,5 cm, grad moderat și crescut de anaplazie celulară și nucleară a tumorii, prezența invaziei limfovaskulare, și prezența focarelor de necroză în tumoră.

4. Studiile noastre au arătat că la paciențele din grupul de risc crescut adenocarcinomul seros-papilar, caracterizat printr-un grad sporit de malignitate, apare aproape de 3 ori mai des. Aceeași tendință poate fi observată la paciențele la care adenocarcinomul a fost asociat cu metaplazie cu celule scuamoase.

5. La paciențele din grupul de risc crescut au fost diagnosticate cele mai agresive tipuri histologice de cancer de corp uterin: adenocarcinom cu celule seros-papilare și adenocarcinom cu celule clare, care au apărut mai des la paciențele cu infertilitate în anamneză (45,9%) și (5,0%), în comparație cu paciențele cu funcție reproductivă păstrată (10,2%, respectiv 2,5%).

6. Au fost determinate caracteristici semnificative între parametrii morfologici ai sângelui care corelează direct cu grupul de risc. INL a variat în toate grupurile de risc în limitele de la 0,65 la 7,22. În grupul de risc crescut valoarea mediana a indicelui neutrofile/limfocite a fost cea mai înaltă și a constituit 5,34, ce corespunde datelor literaturii despre interdependența între INL și răspândirea procesului tumoral și nivelul agresivității tumorale. ITL a variat de la 55,03 la 428,10 în toate grupurile de risc, însă în grupul de risc crescut valoarea medie a ITL a constituit 355,70.

4. FACTORII GENETICI MOLECULARI ÎN PROGNOSTICUL CANCERULUI ENDOMETRIAL

4.1. Determinarea markerului activității proliferative Ki-67 la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II

Actualmente este recunoscut faptul, că unul dintre indicatorii agresivității procesului tumoral este proliferarea celulară, care poate fi evaluată folosind indicele mitotic și procentul de nuclee Ki-67-pozitive.

Conform unor studii, activitatea proliferativă este direct corelată cu gradul de malignitate histologică, gradul de invazie, prezența metastazelor, în timp ce există o relație inversă între nivelul Ki-67 și prezența receptiei la hormoni steroizi [2,28].

În prezent, un număr destul de mare de studii a fost efectuat pentru a studia markerii proliferării în diferite tumori [6]. A fost demonstrat că indicele de proliferare este un semn de prognostic independent care determină probabilitatea recurenței, supraviețuirii globale și fără boală [3].

Necesită de menționat, că rolul fiziologic al antigenului Ki-67 în ciclul celular încă nu este clar. Cu toate acestea, prezența sa în toate fazele active ale ciclului mitotic permite ca această proteină să fie utilizată ca un marker universal al proliferării în evaluarea activității de creștere a neoplasmelor maligne.

În studiul nostru expresia indicelui cu activitatea proliferativă a fost efectuată la 50 de paciente cu CE. Analizând datele obținute, s-a relevat că, expresia markerului Ki-67 a variat de la 14 până la 75%, și în medie a constituit $43,6 \pm 12,4\%$. În lotul de risc crescut de recurență, Ki-67 a variat între 15 și 87. Media Ki-67 la pacientele cu risc sporit de recurență a fost de $52,4 \pm 18,2\%$. La pacientele din grupul de risc scăzut, expresia Ki-67 a variat semnificativ față de Ki-67 la pacientele cu risc sporit de recurență. Media indicelui de proliferare la pacientele cu risc scăzut de recurență constituie $32,1 \pm 8,7\%$. În grupul CE în stadiile I-II de risc intermediar Ki-67 a variat între 11 și 48%, valoarea medie fiind $27,4 \pm 6,8\%$.

Cea mai frecventă tumoare malignă a uterului este CE. Cu toate acestea, în uter se dezvoltă și multe alte neoplazii maligne mai puțin frecvente, incluzând atât carcinoamele, cât și sarcoamele. Cele mai notabile dintre aceste tumori rare sunt carcinoamele papilar-seroase, carcinoamele adenoscuamoase și carcinoamele cu celule clare. Deoarece sunt mai puțin frecvente, date randomizate pentru a ghida tratamentul adesea nu există. Am efectuat studiul markerului Ki-67 la 9 paciente cu tumori rare ale corpului uterin din lotul total de studiu. Datele noastre arată că la 9 paciente cu carcinoame papilar-seroase, carcinoame adenoscuamoase și carcinoame cu celule clare, markerul Ki-67 variază în limitele de 16 și 77%. Media Ki-67 a constituit $37,9 \pm 7,65\%$. În

același timp, cele mai înalte valori ale indicelui au fost observate la pacientele cu carcinoame papilar-seroase.

La pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II mediana Ki-67 a constituit 49% și la pacientele cu tumorile rare ale corpului uterin Ki-67 a fost 21%.

Pentru a decela interdependența dintre nivelul de expresie Ki-67 și particularitățile clinice la pacientele cu CE în stadiile I-II, am efectuat o analiză de corelație dintre mai mulți parametrii, cum ar fi vârsta, funcțiile menstruală și reproductivă. Rezultatele studiului realizat sunt prezentate în tabelul 4.1.

Tabelul 4.1. Relațiile de corelație și coeficienții de corelație Spearman între expresia Ki-67 și caracteristicile funcțiilor menstruale și reproductive la pacientele cu CE

Grupul de risc	Corelație	Coeficientul de corelație Spearman
Risc scăzut	Ki-67 - vârstă	0,415
	Ki-67 – durata ciclului menstrual	-0,212
	Ki-67 — vârstă menstruației	0,362
	Ki-67 – numărul de sarcini	0,126
Risc intermediar	Ki-67 - vârstă	-0,242
	Ki-67 – durata ciclului menstrual	-0,203
	Ki-67 — vârstă menstruației	-0,242
	Ki-67 – numărul de sarcini	0,069
Risc intermediar-crescut	Ki-67 - vârstă	0,017
	Ki-67 – durata ciclului menstrual	0,293
	Ki-67 — vârstă menstruației	0,044
	Ki-67 – numărul de sarcini	0,451
Risc crescut	Ki-67 - vârstă	0,147
	Ki-67 – durata ciclului menstrual	-0,047
	Ki-67 — vârstă menstruației	0,278
	Ki-67 – numărul de sarcini	-0,179

La pacientele din grupul de risc crescut, datele obținute confirmă o relație inversă între indicele de expresie Ki-67 și durata ciclului menstrual, vârsta menopauzei și numărul de sarcini.

Datele noastre indică o interdependență între expresia Ki-67 și vârsta pacientelor cu CE în stadiile I-II. La pacientele din lotul de risc intermediar s-a depistat o corelație inversă între indicele Ki-67 și numărul de sarcini, precum și o corelație directă între nivelul de expresie Ki-67 și vârstă, durata ciclului menstrual.

Cel mai mare număr de corelații s-a depistat la pacientele din lotul scăzut de recurență: o relație pozitivă între Ki-67 și vârstă, vârsta la menopauză și durata ciclului menstrual. În timp ce, am observat o relație inversă cu numărul de sarcini.

În acest sens, analizând datele obținute din toate grupurile de risc, s-a relevat că indicele de proliferare depinde de vârsta pacientelor. Așadar, în timp ce la pacientele cu vârsta mai mare de 50 de ani, Ki-67 a fost mai mic de 49% în 87% de cazuri, la pacientele cu vârsta până la 50 de

ani, Ki-67 a fost sub 49% la 45% de cazuri. Această corelație a fost observată atât la pacientele cu CE în stadiile I-II din lotul de risc crescut, cât și din lotul pacientelor de risc scăzut.

În plus, în grupurile de paciente cu risc crescut și intermediar de CE în stadiile I-II, a fost relevată o dependență de durata ciclului menstrual și de vârsta menopauzei, cu cei mai mari indici ai indicelui identificați la pacientele în perimenopauză și menopauză cu o durată de până la 5 ani. Astfel, indicele Ki-67 din această categorie de paciente a fost mai mare decât mediana în 89% din cazuri, în timp ce la pacientele în vârstă reproductivă, indicele de proliferare a fost, de regulă, mai mic decât mediana.

În adenocarcinoamele endometrioide bine și moderat diferențiate au prezentat pozitivitate de 20-40% în nucleele celulelor tumorale, aspect care corelează cu gradul histologic și tipul histologic, acestea din urmă având un prognostic favorabil (Figura 4.1).

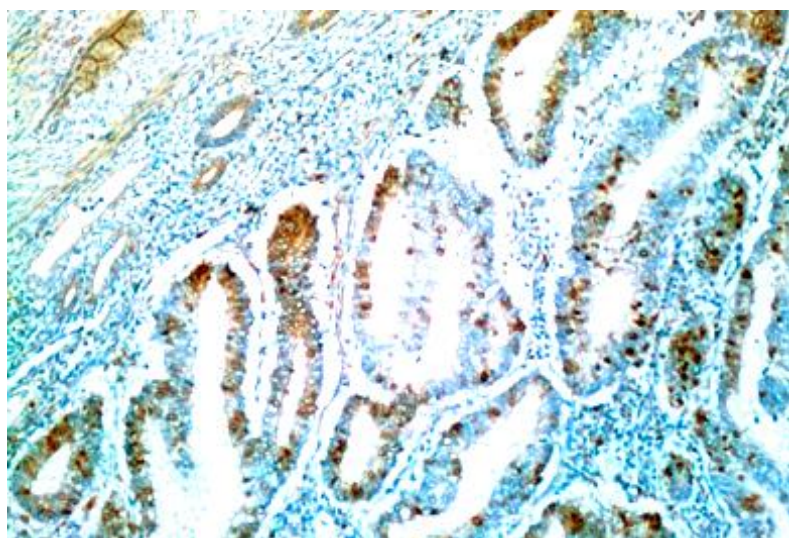


Fig. 4.1 Adenocarcinom endometrial moderat diferențiat, expresia imunohistochimică a indexului Ki-67, ob x 10

În studiul realizat, indicele Ki-67 a fost foarte mare în carcinoamele seroase, carcinoamele cu celule clare, scuamoase și nediferențiate, acestea aparținând unui tip de tumori cu comportament agresiv (Figura 4.2).

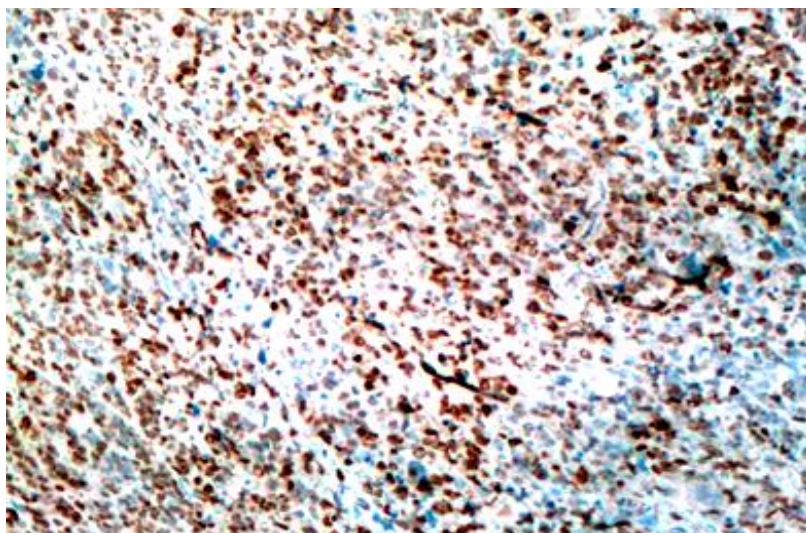


Fig. 4.2 Adenocarcinom endometrial slab diferențiat, expresia imunohistochimică a indexului Ki-67, ob x 10

Pentru a decela interdependența dintre nivelul de expresie Ki-67 și particularitățile morfologice la pacientele cu CE în stadiile I-II am realizat analiza nivelului indicelui în tumori în raport cu gradul de diferențiere tumorală, profunzimea invaziei în miometru, prevalența procesului tumoral și stadiul bolii la pacientele cu CE în stadiile I-II.

Datele studiului nostru arată, că gradul de diferențiere tumorală în toate grupurile de paciente cu cancer endometrial în stadiile I-II a corelat cu nivelul indicelui de proliferare (Tabelul 4.2).

Tabelul 4.2. Dependența expresiei indicelui Ki-67 de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc

Diferențiere tumorală	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Ki-67<49%	Ki-67>49%	Ki-67<49%	Ki-67>49%	Ki-67<49%	Ki-67>49%	Ki-67<49%	Ki-67>49%	
Înalt	13	4	1	2	-	3	-	-	$\chi^2=10,6$; gl=2; p<0,05
Moderat	1	1	4	2	-	6	-	-	$\chi^2=6,015$; gl=2; p<0,05
Scăzut	-	-	-	-	2	1	1	9	$\chi^2=4,174$; gl=1; p<0,05

La 13 paciente cu adenocarcinom endometrial cu grad înalt de diferențiere, indicele Ki-67 a fost predominant sub 49%, în timp ce în cazurile cu diferențiere moderată, aproximativ același număr de paciente (54% și 46%) au avut un indice Ki-67 mediu mai mare și mai mic de 49%. S-a depistat că, indicele de proliferare a fost mai mare decât mediana în grupul pacientelor de risc crescut în 9 cazuri.

La studierea corelației expresiei indicelui de activitate proliferativă, s-a relevat că valoarea indicelui crește odată cu răspândirea procesului tumoral în miometru.

Datele studiului nostru arată, că la pacientele cu CE din grupul de risc sporit de recurența la profunzimea invaziei în miometru până la 0,5 cm indicele Ki-67 a fost sub 49% în 2 (20%) cazuri. La profunzimea invaziei în miometru mai mult de 0,5 cm indicele Ki-67 sub 49% s-a depistat în 10% și mai mare de 49% în 70% cazuri (Tabelul 4.3.)

Tabelul 4.3. Dependența expresiei indicelui Ki-67 de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Profunzime a invaziei în miometru	Grupul de risc								P, gl=2
	Scăzut		Intermediar		Intermediar- crescut		Crescut		
	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	
Infiltrează < 50 %	14	5	-	-	-	3	-	-	$\chi^2=3,556$; p>0,05
Infiltrează > 50 %	-	-	5	4	2	7	1	9	$\chi^2=6,385$; p<0,05

Un interes sporit prezintă dependența indicelui de expresie Ki-67 de stadiul bolii, rezultatele fiind prezentate în tabelul 4.4.

În studiul nostru s-a depistat, că în grupul de pacienți cu risc crescut în stadiul I al bolii, indicele de proliferare a fost sub valoarea medie doar la o pacientă și mai mare de 49% la 9 pacienți în stadiul II. În grupul de pacienți cu risc scăzut în stadiul I al bolii, indicele de proliferare a fost sub valoarea medie la 11 pacienți și mai mare de 49% la 6 pacienți, în grupul de pacienți cu risc intermediar în stadiul I al bolii, indicele de proliferare a fost sub valoarea medie la 5 pacienți și mai mare de 49% la 3 pacienți, iar în grupul de risc intermediar-crescut se atestă creșterea indicelui de expresie Ki-67 mai mult de 49% la 11 pacienți cu CE în stadiul I (Tabelul 4.4.).

Tabelul 4.4. Dependența expresiei indicelui Ki-67 de stadiul bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Stadiul bolii	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar- crescut		Crescut		
	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	Ki- 67<49%	Ki- 67>49%	
I	12	6	5	3	2	11	1	1	$\chi^2=13,440$; gl=3; p<0,01
II	-	-	-	-	-	-	-	9	$\chi^2=4,000$; gl=2 p>0,05

Astfel, analiza rezultatelor obținute a arătat că la pacientele cu CE din grupul de risc crescut, valoarea indicelui de proliferare a fost semnificativ mai mică în stadiul I al bolii comparativ cu stadiul II.

Nivelul de expresie al markerului de proliferare Ki-67 la pacientele cu CE a avut o tendință generală: în toate grupurile a existat o dependență semnificativă de vârsta pacientelor, de natura și durata ciclului menstrual, de unii parametri ai parității ginecologice, și vârsta menopauzei.

În plus, s-a depistat că valoarea expresiei Ki-67 se modifică în funcție de diferențierea tumorii, de gradul de invazie în miometru și stadiul bolii. În același timp, s-a constatat că indicatorii markerului de proliferare sunt în general mai mari la pacientele din subgrupul de risc crescut.

Potrivit literaturii, un procent înalt de Ki-67 este asociat cu un prognostic slab al bolii, potrivit diferitor autori, „pragul” Ki-67, care determină prognosticul evoluției CE, variază în intervalul 33-51% [217]. În studiul nostru, indicele Ki-67 mediu pentru pacientele cu CE a fost de 49%, ceea ce corespunde în general datelor unor cercetători [110, 237].

Interdependențele depistate ale expresiei Ki-67 cu diferențierea tumorii, invazia în miometru și stadiul bolii, au fost similare în toate grupurile de risc. Însă semnificația principală a fost observată la pacientele din grupul de risc crescut, ce indică aparent o mai mare informativitate a indicelui de proliferare pentru acest grup special, care necesită cercetări suplimentare.

4.2. Determinarea mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* la pacientele cu cancer 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.

Se știe că mutațiile genei supresor tumorale *PTEN* și instabilitatea microsateliților sunt evenimente genetice obișnuite în CE [37, 41, 54, 96, 107].

Mutațiile genei *PTEN* sunt printre leziunile genetice driver ale carcinomului endometrial, cele mai tipice pentru carcinoamele endometrioide [108]. 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.

Conform studiilor, deteriorarea mutațională în regiunile promotor (regiunile de reglare) a genelor poate duce la inactivarea completă a acestora, stimulând astfel carcinogeneza [18].

Cu toate acestea, astfel de studii cu privire la gena *PTEN* în Republica Moldova nu au fost efectuate. Rezultatele studiului mutației la 50 paciente cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc sunt prezentate în tabelul 4.5.

Analizând rezultatele obținute, am identificat prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* la 12 (24%) paciente cu CE.

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

Tabelul 4.5. Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* la pacientele cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i>	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Absentă	17	34,0	8	16,0	5	10,0	2	4,0	$\chi^2=17,459$; gl=3; p<0,01
Prezentă	2	4,0	1	2,0	7	14,0	8	16,0	

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

Valoarea prognostică independentă a variantei patogenetice a CE este descrisă în detaliu în literatura de specialitate.

Actualmente este cunoscut faptul că, prima variantă patogenetică a CE (hormonal-dependentă) are un prognostic mai favorabil, comparative cu cea de-a doua variantă (autonomă). Dar, în pofida acestui fapt, metodele moderne de studiu a structurii ADN fac posibilă determinarea profilului genetic al tumorilor, care deseori nu coincide cu tabloul morfopatologic.

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 patogenetică (Tabelul 4.6.).

Tabelul 4.6. Frecvența tumorilor *PTEN*-pozitive la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de variantă patogenetică

Varianta patogenetică	Mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i>				P
	Negativ		Pozitiv		
	Abs.	%	Abs.	%	
Hormonodependentă (I)	37	74,0	12	24,0	χ2=0,574; gl=1; p>0,05
Autonomă (II)	1	2,0	-	-	

Numărul pacientelor cu *PTEN* (+) în varianta patogenetică I a CE a prevalat asupra numărului de paciente cu *PTEN* (+) în cazul variantei II (24,0% și 0%), ceea ce explică probabil evoluția mai favorabilă în varianta I. Pe baza acestui fapt, se poate presupune că prezența mutațiilor

în regiunea promotoare a genei supresoare *PTEN* poate determina o evoluție favorabilă a bolii.

Exprimarea PTEN în funcție de factorii clinici la paciențele cu CE

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 4,0% la vârsta de 50-59 de ani și 12,0% de cazuri la 60-69 de ani și scade în perioadele de vârstă 70-79 de ani, adică în postmenopauză. Repartizarea pacientelor în funcție de vârstă și expresia *PTEN* este prezentată în tabelul 4. 7.

Tabelul 4.7. Frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* în funcție de vârstă pacientelor

Intervalul de vârstă	<i>PTEN</i>	
	Abs.	%
30-39 ani	1	2,0
40-49 ani	1	2,0
50-59 ani	2	4,0
60-69 ani	6	12,0
70-79 ani	2	2,0

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 vârstă, 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 pacienților cu EC. 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 mai tânără 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 adenocarcinomul postmenopauzal se dezvoltă adesea din endometru atrof.

Tabelul 4.8. Frecvența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* la paciențele cu CE în funcție de stadiul bolii

Stadiul bolii	Mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei <i>PTEN</i>				P
	Negativ		Pozitiv		
	Abs.	%	Abs.	%	
I	32	64,0	10	20,0	$\chi^2=0,001$; gl=1; p>0,05
II	6	12,0	2	4,0	

Am analizat relația dintre prezența unei mutații c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* și a factorilor morfologice de prognostic: 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 malignitate 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 pacienții cu CE sunt prezentate în tabelul 4.9.

Tabelul 4.9. Dependența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* de gradul de diferențiere la pacienții cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Gradul de diferențiere	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	
Scăzut	16	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 cu grad scăzut din grupul de risc crescut au avut o mutație c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*. Mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* au 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 infiltrează mai mult de jumătate din grosimea miometrului în toate grupurile studiate.

Astfel, în tumorile cu invazie a miometrului până la jumătate din grosimea acestuia la grupul de risc scăzut, doar 1 dintre 12 de tumori au fost *PTEN* + (2,0%); întrucât tumorile cu invazie de peste jumătate din grosimea miometrului au fost observate în 6 dintre 9 cazuri (12,0%) din grupul de risc crescut (Tabelul 4.10).

Tabelul 4.10. Dependența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc

Profunzimea invaziei în miometru	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar- crescut		Crescut		
	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	<i>PTEN</i> -	<i>PTEN</i> +	
Infiltrează < 50%	17	1	-	-	3	1	-	2	$\chi^2=7,619$; gl=2; p<0,05
Infiltrează > 50%	-	1	8	1	2	6	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% dintre cazuri. Într-un proces tumoral larg răspândit, mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* este detectată mult mai des (57%).

Astfel, analiza datelor obținute a relevat că frecvența expresiei *PTEN* la pacientele cu CE depinde de gradul de diferențiere tumorală, de stadiul procesului tumoral, de prevalența și profunzimea invaziei tumorale și de dependența de expresie *PTEN* pe profunzimea invaziei și stadiul bolii, fiind cea mai mare exprimată în subgrupul fără tulburări metabolice, ceea ce reprezintă o caracteristică importantă.

Astfel, analiza datelor obținute a relevat că frecvența expresiei *PTEN* la pacientele cu CE depinde de gradul de diferențiere tumorală, de stadiul procesului tumoral, de prevalența și profunzimea invaziei tumorale și de dependența de expresie *PTEN* pe profunzimea invaziei și stadiul bolii, fiind cel mai mult exprimată în grupul de risc crescut, ceea ce reprezintă o caracteristică importantă.

În același timp, la studierea expresiei *PTEN* la pacientele din diferite grupuri de risc, s-a constatat că în grupul de pacienți de risc crescut, mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* a fost observată mai des decât în CE la pacientele din grupul de risc scăzut (85% și, respectiv, 79%). Observarea dinamică a pacienților cu mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei a relevat o evoluția nefavorabilă a bolii, care s-a manifestat prin recurență în 53% cazuri.

4.3. Determinarea epimutației *MLH1* la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II

Una dintre anomaliile genomice depistate în carcinomul endometrioid sunt modificările în repetarea secvențelor de acid dezoxiribonucleic (ADN), așa-numiții microsateliți - fenomenul instabilității microsateliților (IM) - un defect în repararea bazelor de ADN nepereche [5]. Aceste

schimbări reflectă diverse daune ale genelor supresoare tumorale: *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2* [2, 7, 9].

În prezentul studiu, 50 de femei cu CE 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 de 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: 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% dintre cazuri la 60-69 de ani și scade în perioadele de vârstă 70-79 de ani, adică în postmenopauză, ajungând la 20,0% (Tabelul 4.11).

Tabelul 4.11. Repartizarea pacienților cu CE în funcție de vârstă și prezența epimutației *MLH1*

Intervalul de vârstă	Prezența <i>MLH1</i>	
	Abs.	%
30-39 ani	-	-
40-49 ani	2	20,0
50-59 ani	3	30,0
60-69 ani	5	50,0
70-79 ani	0	0

La femeile aflate în perioadă postmenopauzală, IM 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 atrofic.

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 4.12. Dependența *MLH1* de stadiul bolii la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II

Stadiul bolii	MLHI				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 4.13.

Tabelul 4.13. Dependența prezenței epimutației *MLH1* de gradul de diferențiere tumorală la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Gradul de diferențiere	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		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	14	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, absența epimutației *MLH1* a fost mai des observată la pacientele cu adenocarcinom de grad scăzut și moderat de diferențiere (18,0% și 48,0%). Astfel, în tumorile cu grad scăzut de diferențiere la pacientele din grupul de risc scăzut, doar 1 (2,0%) dintre 10 de tumori au fost asociate cu *MLH1*+, întrucât în grupul de risc crescut au fost observate în 4 (8,0%) dintre 10 cazuri. În toate grupurile de risc s-a înregistrat absența mutației *MLH1* în cazul gradului înalt de diferențiere tumorală.

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.

Așadar, 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 fără această mutație.

Am studiat prezența epimutației *MLH1* în funcție de profunzimea invaziei tumorale la pacientele cu CE în toate grupurile de risc (Tabelul 4.14).

Tabelul 4.14 Dependența prezenței epimutației *MLH1* de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu cancer endometrial în funcție de grupul de risc

Profunzimea invaziei în miometru	Grupul de risc								P
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut		
	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	MLH1-	MLH1+	
Infiltrează < 50%	18	2	1	-	-	-	-	1	$\chi^2=2,424$; gl=2; p>0,05
Infiltrează > 50%	-	-	6	2	8	2	7	3	$\chi^2=1,293$; gl=2; p>0,05

Analizând repartizarea pacientelor în funcție de profunzimea invaziei în miometru a tumorii am obținut următoarele date: prezența epimutației *MLH1* s-a detectat la 3 (6,0%) 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 (14,0%) paciente.

Astfel, rezultatele studiului au arătat o incidență suficient de mare prezenței hipermetilării promotorului *MLH1* care face parte din calea de reparare a ADN-ului MMR la pacientele examinate. Vârsta medie a pacientelor din grupul de risc crescut cu prezența epimutației *MLH1* este semnificativ mai mică în comparație cu vârsta medie a pacienților din grupul de risc scăzut cu prezența epimutației *MLH1*; în grupul de paciente de risc intermediar-crescut prezența epimutației *MLH1* a predominat la femeile sub 50 de ani, în timp ce pacientele din grupul de 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% de cazuri. La studierea răspândirii procesului tumoral în asocierea cu mutația *MLH1* s-a observat depistarea mai frecventă a epimutației în 7% dintre cazuri ce indică potențial mai agresiv a acestor tipuri de tumori, caracterizat printr-un prognostic nefavorabil al evoluției cancerului endometrial.

Caz clinic nr. 1

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.

Istoricul bolii. Din anamneză s-a relevat că pacienta se consideră bolnavă timp de 4 luni, când a apărut metroragie în perioadă 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 2, obezitate de gradul III.

Anamneza eredocolaterală. Patologie oncologică la rude de gradul 1-2 – nu cunoaște. Mama, mătușa (sora mamei) – au suferit de diabet zaharat tip 2 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. Parametriile libere, indolare. Fornixurile libere, indolare. Eliminări transparente din căile genitale în cantitatea 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 500 mg $\times$ 2 ori, per os. Plaga cicatrizată *per primam*. Rezultatul histopatologic postoperatoriu: 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 Ki-67 (44%), prezență mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN*. În prezent, pacienta este sub observație timp de 24 de luni. În timpul examinării ulterioare, au fost obținute date privind recidiva locală, confirmate prin examenul histopatologic.

În acest caz, influența negativă a markerilor genetici imunohistochimici și moleculari asupra prognosticului a fost realizată printr-un nivel crescut de expresie a Ki-67 și prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN*.

Caz clinic nr. 2

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

Istoricul 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 erodocolaterală. Patologie oncologică la rude de gradul 1-2 absentă.

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. Parametriile libere, indolare. Fornixurile libere, indolare. Eliminări transparente din căile genitale în cantitatea moderată.

Pacienta a fost supusă unui tratament combinat în volum de histrectomie totală cu anexe și radioterapie. Rezultatul histopatologic postoperatoriu: adenocarcinom endometrial moderat

diferențiat endometrial cu invazie mai puțin de 50% în miometru, cu localizarea procesului tumoral în fundul uterin, cu dimensiune 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 o expresie slabă a Ki-67, absența mutațiilor *MLH1* și *PTEN*. Setul identificat de markeri molecular-genetici poate prezice un prognostic favorabil al CE. În prezent, pacienta se află în evidența la CCD IO timp de 36 de luni fără semne de recidivă sau progresare.

4.4. Concluzii la capitolul 4

1. S-a constatat că valoarea expresiei Ki-67 se modifică în funcție de diferențierea tumorii, de gradul de invazie în miometru, răspândire în canalul cervical și stadiul bolii, iar indicatorii markerului de proliferare sunt în general mai mari la pacientele cu CE din grupul de risc crescut, intermediar-crescut. În același timp, în grupul de risc scăzut, un nivel ridicat al expresiei Ki-67 a corelat cu un grad scăzut de diferențiere.

2. Analiza datelor obținute a arătat că la pacientele cu CE din grupul de risc scăzut, valoarea expresiei Ki-67 depinde de gradul de diferențiere tumorală, de stadiul procesului tumoral, de prevalența și profunzimea invaziei tumorale, în timp ce creșterea dimensiunii tumorii și diferențierea adenocarcinomului scade, nivelul Ki -67 a crescut. Un nivel ridicat al expresiei Ki-67 este asociat cu semne prognostice nefavorabile în CE, determinând prognosticul extrem de nefavorabil al acestuia.

3. În rezultatul studiului au fost depistate particularități caracteristice pentru dereglări epigenetice Metilarea anormală a regiunii promotor a genei *MLH1* este o modificare non-aleatorie la pacientele cu CE și este detectată mai des în rândul pacienților în perioada perimenopauzală. Epimutația genei *MLH1* a fost depistată la 10 (20%) paciente. La pacientele din toate grupurile de risc odată cu prezența epimutației *MLH1* se observă o scădere în diferențierea tumorală în corelație cu creșterea dimensiunii primare a tumorii și răspândirii procesului tumoral determinând un prognostic nefavorabil al bolii.

4. Prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN* la pacientele cu CE a fost depistată în 12 (25%) cazuri. S-a constatat că la pacientele cu CE, frecvența mutației în gena *PTEN* a fost în corelație de gradul de diferențiere tumorală și de profunzimea invaziei tumorale și a fost cea mai înaltă în grupul de risc crescut , care este o caracteristică importantă. Prezența mutației *PTEN* la pacientele cu CE în stadiile I-II este asociată cu un prognostic nefavorabil și un risc sporit de recurență dispensabil de stratificarea riscului de recurență.

5. SEMNIFICAȚIA FACTORILOR CLINICO-MORFOLOGICI ȘI MOLCEULAR-GENETICI DE PROGNOSTIC LA PACIENTELE CU CANCER ENDOMETRIAL ÎN STADIILE I-II

5.1. Supraviețuirea generală și fără recidivare la trei ani a pacienților cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de factorii de risc

Rezultatele pe termen lung reprezintă indicatorul principal de eficacitate a tratamentului CE, în cercetarea noastră fiind prezentate prin supraviețuirea generală și fără recidivare, precum și prin incidența metastazelor după tratamentul specific.

Este cunoscut faptul că cele mai multe cazuri de progresie a bolii și mortalitate prin cancer endometrial se întâlnesc în primii trei ani de viață după tratament.

După datele literaturii rezultatele tratamentului în timpul monitorizării pacienților cu CE timp de 3 și 5 ani nu au prezentat diferențe semnificative ale indicatorilor. Astfel, s-a decis de a lua în considerare o perioadă de trei ani pentru evaluarea rezultatelor pe termen lung ale tratamentului pacienților cu CE.

Rezultatele tratamentului pacienților cu cancer endometrial au fost evaluate, în funcție de diferiți factori ai bolii. Materialul clinic a fost studiat utilizând metoda dinamică de calculare și prelucrare statistică a indicatorilor pe intervalele de monitorizare, cu ulterioara prezentare a lor sub formă de tabele și figuri.

Analiza rezultatelor de trei ani ale tratamentului al 269 de pacienți cu CE a fost efectuată în conformitate cu criteriile de supraviețuire generală la 3 ani și supraviețuire fără progresare. Criteriile pentru evaluarea supraviețuirii au fost următoarele:

- pacienta este în viață,
- pacienta a decedat din cauza bolii de bază,
- pacienta este în viață cu recidive și/sau metastaze la distanță,
- pacienta a renunțat la observație
- pacienta a decedat din alt motiv.

Au fost studiate rezultatele tratamentului pe trei ani la toate pacientele examinate cu CE în stadiile I-II. Patru paciente au renunțat la observație din cauza migrației. Toate pacientele au fost înregistrate la CCD IMSP IO și au fost examinate în mod regulat în primii doi ani după tratament, la fiecare trei luni și ulterior - o dată la șase luni. Mediana perioadei de monitorizare a pacienților după tratamentul specific a constituit 36 de luni.

Testul de egalitate a distribuțiilor de supraviețuire pentru diferitele niveluri ale grupului de risc după metoda Log Rank (Mantel-Cox) a arătat o supraviețuire mai mare a pacienților cu cancer endometrial în stadiile I-II din grupul de risc intermediar $\chi^2=20,420$; $gl=3$; $p<0,001$ (Figura 5.1).

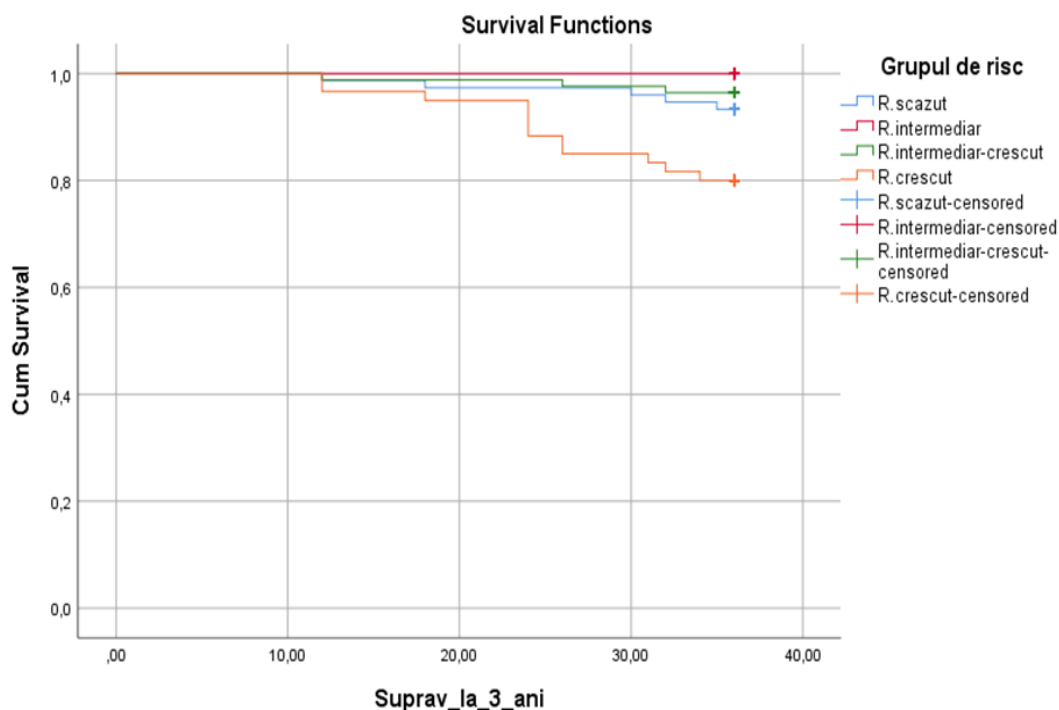


Fig. 5.1. Supraviețuirea generală la trei ani a pacienților cu cancer endometrial în stadiile I-II

Perioadele de monitorizare în grupul de risc scăzut de la 3 la 6 luni, de la 6 la 9 luni și de la 9 la 12 luni au decurs fără „eveniment”, înregistrând 100% în ceea ce privește supraviețuirea generală; în grupul de risc crescut perioada de la 3 la 6 luni și intervalul 6–9 luni a decurs fără „eveniment”, a constituit 98,7% și, respectiv, 9–12 luni – 97,4%. În perioada 12–18 luni, supraviețuirea generală a constituit 97,3% în grupul de risc scăzut, în comparație cu 91,0% în grupul de risc crescut; 18–24 luni – 98,9% în grupul de risc scăzut versus 87,2% în grupul de risc crescut; 24–30 de luni – 98,9% în grupul de risc scăzut, în comparație cu 78,2% în grupul de risc crescut; în perioada 30–36 de luni, supraviețuirea generală a constituit 98,7% în grupul de risc scăzut și 71,8% în grupul de risc crescut.

Analiza supraviețuirii generale a pacienților cu CE în stadiul I conform vârstei, a arătat că la 3 ani de observație în grupul de vârstă sub 50 de ani, 92,3% dintre paciente erau în viață, în grupul de la 50 la 60 de ani - 88,2% dintre paciente și în rândul pacienților cu vârsta peste 60 de ani, rata generală de supraviețuire la trei ani a fost de 84,1% (Tabelul 5.1.). Diferența dintre ratele de supraviețuirea generală între grupurile de paciente sub 50 și peste 60 de ani este semnificativă statistic ($p < 0,05$).

Tabelul 5.1. Supraviețuirea generală a pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și vârstă

Grupuri de vârstă	Grupul de risc							
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut	
	Abs	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
<50 de ani	7	94,00	5	100,0	3	100,0	2	78,6
50-60 de ani	12	92,3	22	100,0	14	93,6	13	85,7
>60 de ani	49	95,7	45	100,0	67	100,0	56	72,2

Astfel, datele obținute confirmă declarațiile bine cunoscute despre un prognostic mai favorabil de CE la pacientele tinere.

A fost analizată supraviețuirea generală pe stadii, pe parcursul a 36 de luni. În studiul nostru supraviețuirea generală la trei ani pentru pacientele cu CE în stadiul I a fost observată la 205 (93,5%; ÎI 95% [90,0-96,6]) paciente. În același timp, acest indicator pentru pacientele cu stadiul IA și IB a fost de 94,2% (ÎI 95% [89,0-98,1]), respectiv 92,7% (ÎI 95% [87,1-97,3]). După cum rezultă din datele prezentate, există o tendință de îmbunătățire a rezultatelor pe termen lung la paciente cu CE în stadiul IA în comparație cu stadiul IB ($p>0,05$). Din cauza că 60 (93,5%; ÎI 95% [90,0-96,6]) paciente cu CE în stadiul II au fost prezentate de grupul de risc crescut, trebuie remarcat faptul că, în stadiul II rata de supraviețuire la 3 ani a fost mai mică de 60% și a constituit 74,2% (ÎI 95% [71,0-79,6]).

Tabelul 5.2. Supraviețuirea generală a pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Stadiul bolii	Grupul de risc							
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut	
	Abs	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Stadiul IA	47	94,00	20	100,0	20	100,0	11	78,6
Stadiul IB	12	92,3	23	100,0	44	93,6	24	85,7
Stadiul II	0	0	0	0	17	100,0	13	72,2

5.2. Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani a pacienților cu cancer endometrial în stadiile I-II

Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani a pacienților cu cancer endometrial în stadiile I-II în conformitate cu factorii clinici și morfologici

Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani a cancerului endometrial în stadiul IA a constituit 99,8% dintre pacientele din grupul de risc scăzut. Rezultate similare s-au identificat în studiul supraviețuirii fără recidivă la 3 ani a pacienților cu CE din grupul de risc intermediar. Analizând

supraviețuirea fără recidivă la 3 ani în grupurile de risc intermediar-crescut și crescut, putem observa scăderea supraviețuirii la 91,65% și 81,0%, respectiv.

Astfel, supraviețuirea fără recidivă la 3 ani a pacienților cu stadiul IB al CE a fost de 98,5%. În stadiul II al bolii, 74% dintre paciențele din grupul de risc crescut au decedat din cauza recidivelor și metastazelor la distanță în termen de 42,5 luni și 25% dintre paciențe - în termen de 20,8 luni. Supraviețuirea generală la paciențele cu CE în stadiul I din grupul de risc scăzut prezintă o semnificație statistică mai mare decât la paciențele din grupul de risc crescut (81,3 și, respectiv, 30,9%, $p=0,001$). Din cauza numărului mic de pacienți în stadiul II nu a fost efectuată nicio comparație a rezultatelor tratamentului în acest grup, în funcție de prezența invaziei perilimfovaskulare. Cu toate acestea, trebuie remarcat faptul că, în prezența invaziei perilimfovaskulare rata de supraviețuire la 3 ani a pacienților a fost mai mică de 50%.

Tabelul 5.3. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani a pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

Stadiul bolii	Grupul de risc							
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Stadiul IA	44	88,0	20	100,0	20	100,0	8	57,1
Stadiul IB	11	84,6	20	87,0	41	87,2	20	71,4
Stadiul II	0	0	0	0	17	100,0	8	44,4

Diferențe semnificative statistic au fost relevate în studiul rezultatelor pe termen lung ale tratamentului pacienților cu CE de diferite grupuri de vârstă. S-a constatat că supraviețuirea generală a pacienților cu CE în stadiile I-II cu vârsta peste 60 de ani este statistic semnificativ mai mică decât în alte grupuri de vârstă ($p<0,05$). Nu au fost observate tendințe similare în urma analizei supraviețuirii fără boală la 3 ani. Așadar, la paciențele cu vârsta sub 40 de ani, aceasta constituia 87,9%, 40-49 ani - 88,1%, 50-59 ani - 78,6%, 60-69 ani - 61,8%, 70 ani și peste - 50,1%.

Tabelul 5.4. Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani a pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și vârstă

Grupuri de vârstă	Grupul de risc							
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
<50 de ani	7	87,5	6	100,0	7	100,0	3	60,0
50-60 de ani	23	95,8	22	100,0	32	97,0	15	75,0
>60 de ani	40	93,0	22	100,0	42	95,5	30	85,7

Dintre 269 de paciențe cu CE în stadiile I-II incluse în studiu, recidivele și metastazele au fost observate la 20 (7,4%; ÎI 95% [4,3-10,6]) paciențe. Dintre acestea, 3 (1,1%; ÎI 95% [0,0-2,4]) paciențe au fost diagnosticate cu recidive ale bolii, 17 (6,3%; ÎI 95% [3,4-9,2]) – cu metastaze.

După cum urmează din cele expuse mai sus, la paciențele cu CE în stadiile I-II, metastazele au apărut de 5,7 ori mai frecvent decât recidivele. Paciențele cu progresare a bolii au fost distribuite după cum urmează: stadiul IA – 7 (21,8%), IB – 10 (36,4%) paciențe (Tabelul 5.5.).

Tabelul 5.5. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de frecvența recidivelor și metastazelor (abs.)

	IA	IB	II	P
Recidive	2	1	-	$\chi^2=0,667$; gl=2; $p>0,05$
Metastaze	5	9	3	$\chi^2=4,94$; gl=2; $p>0,05$

În stadiul IA al CE recidiva a fost detectată doar la 2 paciențe, care este de aproape 2,5 ori mai mică decât numărul de metastaze detectate - la 5 paciențe. În stadiul IB al CE, recidiva bolii a fost diagnosticată la 1 pacientă, iar metastaze – la 9 paciențe.

În stadiul IA al CE, recidiva a fost detectată doar la 2 (3,1%) paciențe, care este aproape de 5 ori mai mică decât numărul de metastaze detectate - 5 (15,6%) paciențe. În stadiul IB al CE, recidiva bolii a fost diagnosticată de peste 9 ori mai rar decât metastazele - la 1 (9,1%) și, respectiv, 9 (24,7%) paciențe. În stadiul II al CE, recidivă a bolii nu a fost diagnosticată la nicio pacientă, însă metastazele - la 3 (24,7%) paciențe.

După tratamentul pacienților cu CE în stadiile I-II metastaze în ganglionii limfatici (GL) au fost înregistrate la 6 paciențe, la o pacientă a fost afectată regiunea iliacă, la 5 regiunea paraaortică. Metastaze în ficat au fost diagnosticate la 2 paciențe, în plămâni - la 3, în creier - la 1 și multiple - la 5 paciențe (Tabelul 5.6.).

Tabelul 5.6. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II în funcție de grupul de risc și localizarea recidivelor și metastazelor (abs.)

Grupuri de recidive și metastaze	Localizare	Grupul de risc				P
		Scăzut	Intermediar	Intermediar -crescut	Crescut	
Loco-regionale	Bontul vaginal	-	-	1	2	$\chi^2=2,322$; gl=3; $p>0,05$
	Metastaze în GL	-	2	2	2	$\chi^2=2,632$; gl=3; $p>0,05$
Metastaze la distanță	Ficat	-	1	-	1	$\chi^2=1,405$; gl=3; $p>0,05$
	Plămâni	1	2	-	-	$\chi^2=2,795$; gl=3; $p>0,05$
	Creier	-	1	-	-	$\chi^2=2,211$; gl=2; $p>0,05$
Mixte		1	3	-	-	$\chi^2=2,789$; gl=2; $p>0,05$

În stadiul IA, boala pulmonară metastatică a fost înregistrată la o (3,1%) pacientă, în ganglionii limfatici - la 2 (6,3%) paciențe și metastaze multiple - de asemenea la 2 (6,3%) paciențe.

În stadiile I-II ale CE au fost depistate metastaze în ganglionii limfatici la 10 (13%) paciente, în plămâni - la 3 (3,9%), în ficat - la 1 (1,3%), în vagin - de asemenea la o (1, 3%) pacientă, iar în 4 (5,2%) cazuri au apărut metastaze multiple.

Durata medie a apariției metastazelor în CE în stadiile I-II a fost de $12,3 \pm 2,1$ luni, apariția metastazelor în GL - $9,5 \pm 2,4$ luni, în plămâni - $14,5 \pm 4,6$ luni, în ficat - $9,3 \pm 2,5$ luni, în vagin - $10,0 \pm 3,1$ luni, multiple - $17,5 \pm 6,8$ luni. În consecință, în primii termeni, metastazele se dezvoltă în ficat și GL.

Trebuie remarcat faptul că momentul mediu al debutului metastazelor în stadiile I-IIA și I-IIB este practic același. Perioada medie de debut al metastazelor a fost de $28,5 \pm 7,2$ luni. În stadiile I-II, recidiva a fost detectată doar la 1 pacientă la 14 luni după tratamentul primar. În etapele I-II, acest indicator a fost de $30,8 \pm 8,4$ luni.

Perioada medie a dezvoltării sincrone a recidivelor și metastazelor ale CE în stadiul I a fost de $9,3 \pm 6,1$ luni, în stadiile IA și IB - $14 \pm 5,6$ și respectiv $7 \pm 1,3$ luni. Cu toate acestea, trebuie subliniat, de asemenea, că combinația de recidivă și metastaze a fost diagnosticată numai la 1 pacientă cu stadiul IA și la 2 cu stadiul II.

În pofida numărului mare de lucrări, ni s-a părut oportun să luăm în considerare repartizarea pacientelor cu recidive și metastaze ale stadiilor CE I-II, în funcție de semnele morfologice ale bolii.

În funcție de structura morfologică a CE, s-a remarcat următoarea repartizare a pacientelor cu recidive conform acestui semn. Nu au existat cazuri de dezvoltare a adenocarcinomului endometrioid extrem de diferențiat, moderat diferențiat a fost observat la 3 paciente, slab diferențiat - la 1 pacientă și adenocarcinom endometrioid cu metaplazie a celulelor scuamoase - la 2 paciente.

Forme rare de cancer de corp uterin (adenocarcinom cu celule clare) au fost detectate la 2 paciente. În grupul de paciente cu metastaze, adenocarcinomul endometrial înalt diferențiat a apărut la 1 pacientă, moderat diferențiat - la 4, slab diferențiat - la 3 paciente. Adenocarcinom endometrial cu metaplazie cu celule scuamoase a fost observat la 8 paciente. Forme histologice rare de EC au fost diagnosticate la 6 paciente: adenocarcinom cu celule clare - la 3, carcinom cu celule scuamoase glandulare - la 2, adenocarcinom seros - la 1 pacientă.

Astfel, atât cu recidive, cât și cu metastaze ale CE în stadiile I-II, mai mult de 50% din rezultatele histopatologice reprezintă forme histologice rare de cancer de corp uterin.

Durata medie a dezvoltării metastazelor CE în stadiile I-II a fost de $17,0 \pm 1,59$ (Îl 95% [13,8-20,2]) luni, apariția metastazelor în ganglionii limfatici - $21,6 \pm 0,87$, în plămâni - $10,5 \pm 0,62$, în ficat - $18,5 \pm 0,52$, multiple - $17,2 \pm 0,89$ luni.

La analiza repartizării pacienților cu progresie a CE în stadiile I-II după tratament primar în funcție de profunzimea invaziei tumorale în miometru, s-a constatat că în 1 caz de recidivă, tumora a fost localizată în endometru. Profunzimea invaziei în miometru a fost înregistrată până la 50% în 2 cazuri de recidivă și în 6 cazuri de metastaze după tratamentul primar. Profunzimea invaziei în miometru mai mult de 50% a fost observată la 6 paciente cu metastaze. Și în cazul invaziei în toată grosimea uterului metastaze după tratament au fost înregistrate la 5 paciente. (Tabelul 5.7.).

Tabelul 5.7. Repartizarea pacienților cu CE în stadiile I-II de progresie în funcție de grupul de risc și profunzimea invaziei tumorale în miometru (abs.)

Profunzimea invaziei tumorale în miometru	Grupul de risc							
	Scăzut		Intermediar		Intermediar-crescut		Crescut	
	Recid.	Metast.	Recid.	Metast.	Recid.	Metast.	Recid.	Metast.
În limitele endometrului	-	-	-	-	-	-	1	-
Până la 50% miometru	-	2	-	3	-	-	2	1
Mai mult de 50% miometru	-	-	-	3	-	2	-	1
Toată grosimea	-	-	-	3	-	1	-	1

Trebuie remarcat faptul că adâncimea medie de invazie în miometru, la paciențele cu recidive și metastaze, a fost de $10,8 \pm 0,63$ mm față de $7,2 \pm 0,52$ mm în absența progresiei bolii.

În stadiul IA-IB, acești indicatori au fost de $7,9 \pm 1,4$ și $6,2 \pm 0,9$ mm, iar în stadiul II - respectiv $11,7 \pm 1,3$ mm.

Diferența dintre indicatorii de invazie în miometru la paciențele cu/fără recidivă bolii în stadiul II este semnificativă statistic (metastaze dezvoltate la 3 paciente cu tumoră răspândită în glandele endocervicale, la 3 paciente - cu invazie în colul uterin la o adâncime de 1 cm.

În funcție de gradul de diferențiere a adenocarcinomului endometrioid, paciențele au fost distribuite în felul următor (Tabelul 5.8.).

Tabelul 5.8. Repartizarea pacienților cu progresie a CE în stadiile I-II a diferitelor grupuri de risc în funcție de gradul de diferențiere tumorală

Gradul de diferențiere	Grupul de risc															
	Scăzut				Intermediar				Intermediar-crescut				Crescut			
	Recid.		Metast.		Recid.		Metast.		Recid.		Metast.		Recid.		Metast.	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Scăzut	1	3,2	1	3,2	-	-	-	-	1	2,8	3	8,5	3	11,9	-	-
Moderat	2	8,4	1	4,2	-	-	1	6,3	-	-	2	7,5	4	21,0	1	5,3
Înalt	2	10,1	1	5,1	-	-	2	15,2	2	9,0	4	18,1	5	31,6	1	6,3

Pentru a evalua valoarea predictivă a INL pentru timpul median până la progresie, am folosit valorile prag ale acestor indici: deoarece valorile minime au fost alese 2,33 pentru INL; valoarea pragului maxim pentru INL a fost de 5,0.

Timpul mediu până la progresie la paciențele cu un indice neutrofile/limfocite între 2,43 și 5,0 a fost de 12 luni (de la 7 la 15 luni), care diferă ($p=0,07$) de timpul mediu la paciențele din grupul de risc scăzut cu nivelul $INL < 2,43$ și din grupul de risc crescut cu $INL > 5,0$. Timpul mediu până la progresie la paciențele din grupul de risc scăzut a constituit 8 luni (de la 7 la 9 luni) și respectiv 6 luni (de la 5 la 9 luni) la paciențele din grupul de risc crescut.

Influența indicelui trombocite/limfocite (ITL) asupra timpului până la progresie demonstrează, de asemenea, relația parametrilor luați în considerare cu rata de supraviețuire a pacienților cu cancer endometrial.

Timpul mediu până la progresie la paciențele cu un raport scăzut dintre numărul absolut de trombocite și numărul absolut de neutrofile ($< 155,70$) a fost de $25,5 \pm 4,50$ luni (Î 95% [23,0-27,6]), la paciențele din grupul de risc scăzut - $30,8 \pm 3,36$ luni (Î 95% [28,5-32,0]) ($F=0,066$; $p=0,937$).

Timpul mediu de supraviețuire a pacienților cu INL înalt (mai mult de 287,3) din grupul de risc crescut a fost de $12,5 \pm 4,50$ luni (Î 95% [9,0-18,0]), la paciențele din grupul de risc scăzut - $18,8 \pm 3,36$ luni (Î 95% [10,5-23,0]) ($F=0,066$; $p=0,937$), care poate indica valoarea prognostică a acestui indicator pentru detectarea semnelor precoce de progresie.

Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani la paciențele cu CE în stadiile I-II, în funcție de expresia factorului de proliferare Ki-67

S-a determinat că markerul Ki-67 are o valoare predictivă în raport cu supraviețuirea pacienților cu cancer endometrial. Evaluarea supraviețuirii fără recidive la 3 ani la paciențele cu CE în funcție de expresia factorului de proliferare Ki-67 conform testului de egalitate a distribuțiilor de supraviețuire după metoda Log Rank (Mantel-Cox) a arătat că activitatea proliferativă sporită (49% sau mai mult) nu a avut niciun efect asupra rezultatelor $\chi^2=2,620$; $gl=1$; $p=0,105$ (Figura 5.2).

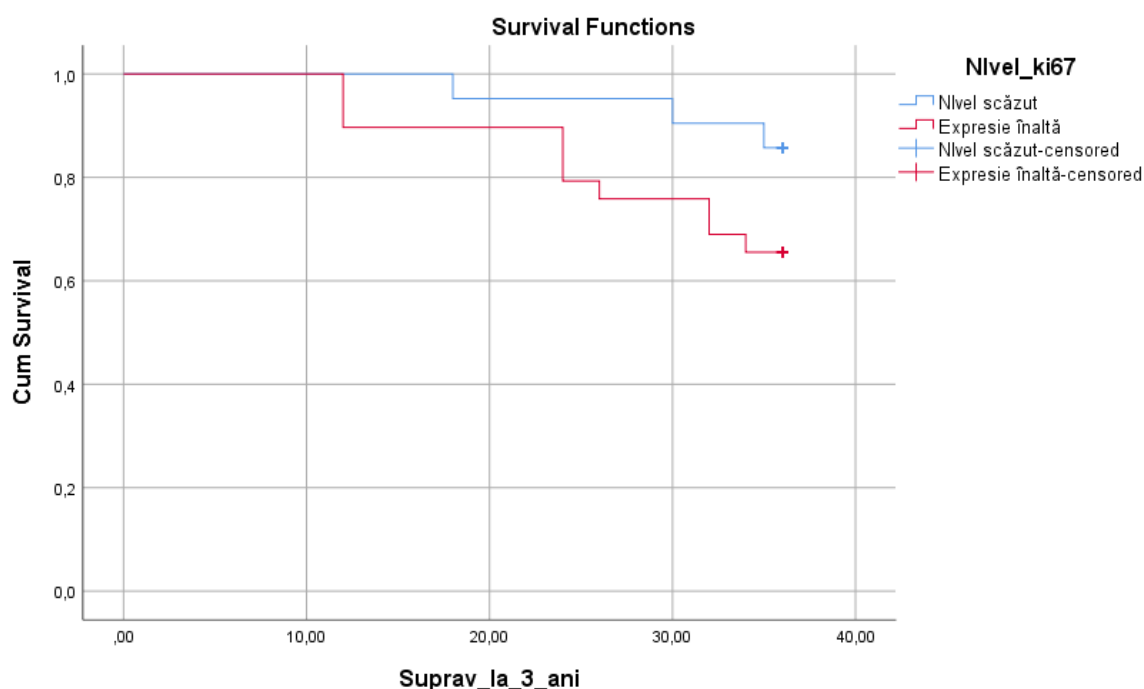


Fig. 5.2. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani la pacientele cu CE în stadiile I-II, în funcție de expresia indicelui de proliferarea Ki-67

Expresia înaltă a factorului de proliferare Ki-67 reduce supraviețuirea fără recidivă la 3 ani până la $15,3 \pm 2,21$ (ÎI 95% [11,1-19,7]) luni. Timpul mediu până la progresie la pacientele din grupul de risc crescut a fost de $13,5 \pm 4,50$ luni (ÎI 95% [9,0-18,0]), la pacientele din grupul de risc scăzut - $15,8 \pm 3,36$ luni (ÎI 95% [10,5-23,0]) ($F=0,066$; $p=0,937$), care poate indica valoarea prognostică a acestui indicator pentru detectarea semnelor precoce de progresie.

Supraviețuirea fără recidivă la 3 ani la pacientele cu CE în stadiile I-II în conformitate cu factorii de prognostic molecular-genetici

În același timp, scopul nostru principal a fost de a studia efectul prezenței mutațiilor genetice într-o tumoare asupra rezultatelor tratamentului.

Am constatat că numai la pacientele tinere (31-40 de ani) nu a existat niciun efect al influenței mutațiilor genice asupra supraviețuirii. Această caracteristică se poate datora atât unui număr mic de observații, cât și particularităților evoluției cancerului endometrial la pacientele cu anomalii ale genelor de reparare a ADN-ului.

Probabil, la o vârstă tânără, influența alor factori genetici care participă în repararea ADN-ului este mai pronunțată și face posibilă compensarea prezenței tulburărilor microsatelitare la pacientele cu CE. După 40 de ani, rata de supraviețuire fără recidivă la 3 ani a pacientelor cu CE are o dependență semnificativă de fenotipul tumorii.

În special, prezența acestui tip de mutație genetică la pacientă este însoțită de o deteriorare

a rezultatelor tratamentului. Mai mult, trebuie remarcat faptul că în intervalele de vârstă de 41-50 și 51-60 de ani, frecvența recidivelor la pacientele cu tulburări microsatelitare a fost de 1,2 ori mai mare, iar în categoriile 61-70 și 71-80 de ani – de 1,5 ori.

Adică, odată cu majorarea vârstei pacientelor, influența instabilității microsatelitare asupra supraviețuirii fără recidivă la 3 ani crește. Acest lucru se poate datora atât scăderii capacităților compensatorii ale organismului, cât și dezvoltării altor tulburări genetice care afectează repararea ADN-ului și, ca rezultat, supraviețuirea pacientelor cu CE.

În studiul nostru supraviețuirea generală la trei ani pentru pacientele cu CE în stadiul I purtătoare ale epimutației promotorului *MLH1* a constituit 37,2% (ÎÎ 95% [35,6-38,1]). În același timp, acest indicator pentru pacientele fără această epimutație a fost de 87,2% (ÎÎ 95% [86,4-91,1]). Testul de egalitate a distribuțiilor de supraviețuire după metoda Log Rank (Mantel-Cox) a arătat o supraviețuire mai mare a pacientelor nepurtătoare a epimutației promotorului *MLH1* $\chi^2=15,974$; $gl=1$; $p<0,001$ (Figura 5.3).

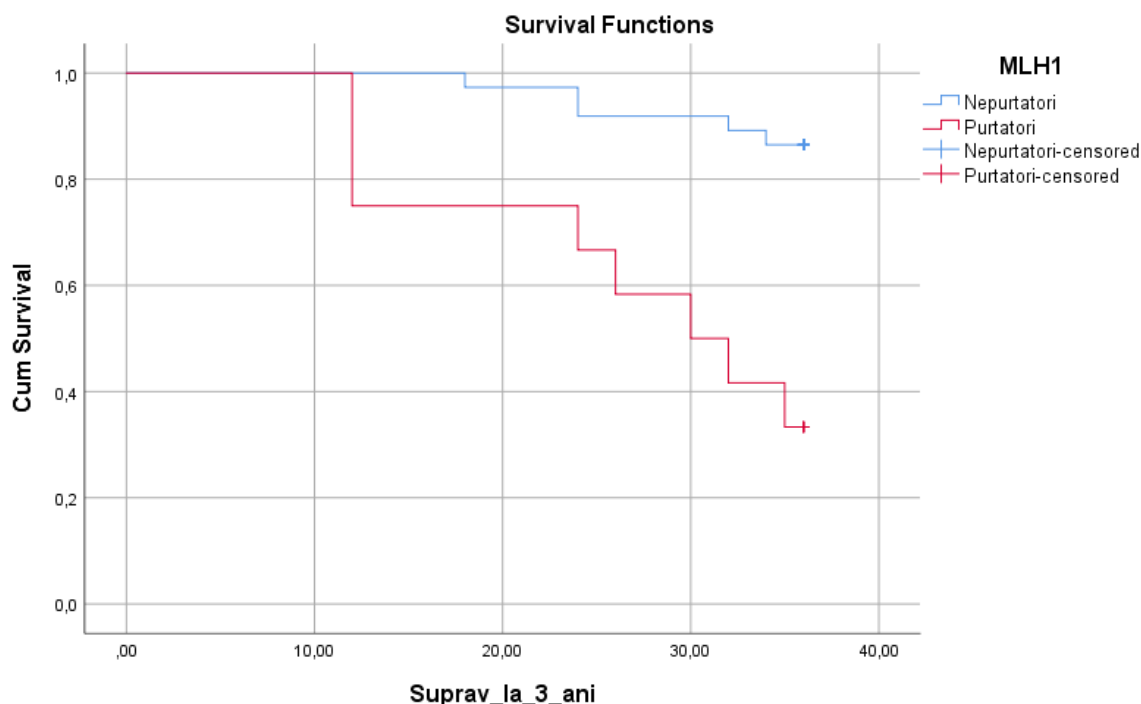


Fig. 5.3. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani la pacientele cu în funcție de portajul epimutației promotorului *MLH1*

Rezultatele analizei supraviețuirii generale la pacientele din grupurile de studiu, în funcție de prezență epimutației *MLH1* a arătat că 71% dintre femeile cu prezență epimutației *MLH1* și 92,5% fără epimutația *MLH1* au atins supraviețuirea la 3 ani. Supraviețuirea la 3 ani fără recidivă s-a înregistrat la 6 paciente cu CE cu prezență mutației în gena *MLH1*.

Astfel, analiza rezultatelor obținute a arătat că la paciențele cu CE, prezența fenotipului cu instabilitate microsatelitică a tumorii afectează semnificativ supraviețuirea fără recidivă la trei ani, indiferent de stratificarea grupurilor de risc.

Timpul mediu până la progresia CE la paciențele cu epimutația *MLH1* a fost de $14,6 \pm 2,54$ (ÎÎ 95% [11,1-19,7]) luni. Timpul mediu până la progresie la paciențele din grupul de risc scăzut a fost de $16,3 \pm 5,5$ (ÎÎ 95% [9,0-28,0]) luni. În același timp, timpul mediu până la progresia CE la paciențele cu mutație *MLH1* în grupul de risc crescut a fost de $10,5 \pm 1,11$ (ÎÎ 95% [9,0-12,0]) luni ($F=0,305$; $p=0,750$). Astfel, analiza rezultatelor obținute a arătat că la paciențele cu CE, prezența fenotipului IMS al tumorii afectează semnificativ timpul mediu până la progresia bolii, indiferent de stratificarea grupurilor de risc.

În ceea ce privește influența mutației în gena *PTEN* la paciențele cu CE asupra timpului de progresie în diferite grupuri de risc, aceasta demonstrează, de asemenea, corelația prezenței mutației *PTEN* cu rata de supraviețuire a pacienților cu cancer endometrial.

În studiul nostru supraviețuirea generală la trei ani pentru paciențele cu CE în stadiul I purtătoare ale mutației în gena *PTEN* a constituit 51,7% (ÎÎ 95% [46,6-55,8]). În același timp, acest indicator pentru paciențele fără această epimutație a fost de 89,1% (ÎÎ 95% [87,9-96,4]). Testul de egalitate a distribuțiilor de supraviețuire după metoda Log Rank (Mantel-Cox) a arătat o supraviețuire mai mare a pacienților nepurtătoare a mutației în gena *PTEN* $\chi^2=9,214$; $gl=1$; $p=0,002$ (Figura 5.4).

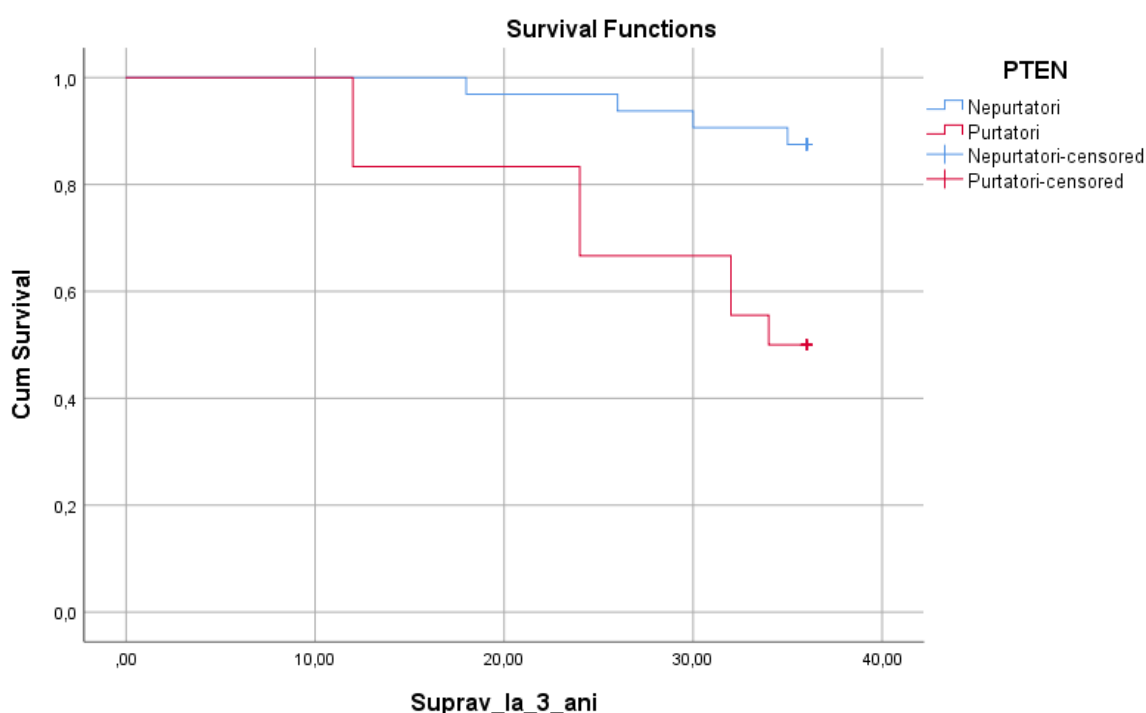


Fig. 5.4. Supraviețuirea fără recidivare la 3 ani la paciențele cu CE în stadiile I-II purtătoare ale mutației *PTEN*

Timpul mediu până la progresia CE la paciențele cu mutație *PTEN* a fost de $15,7 \pm 1,89$ (Î 95% [11,3-20,5]) luni (de la 7 la 15 luni), care nu diferă ($F=0,005$; $p=0,943$) de la timpul mediu până la progresia la paciențele fără mutații – $16,0 \pm 3,97$ (Î 95% [12,0-28,0]).

Astfel, timpul mediu până la progresie la paciențele cu mutație genică *PTEN* din grupul de risc scăzut a fost de $13,5 \pm 3,37$ (Î 95% [9,0-18,0]) luni, diferind semnificativ de cel la paciențele din grupul de risc crescut – $15,8 \pm 3,34$ (Î 95% [10,5-23,0]) luni ($F=16,2$; $p=0,891$), ceea ce poate indica semnificația prognostică a acestui indicator pentru detectarea semnelor precoce de recidivă.

5.3. Concluzii la capitolul 5

1. În studiul nostru supraviețuirea generală la trei ani pentru paciențele cu CE în stadiul I a fost observată la 201 (93,5%; Î 95% [90,0-96,6]) paciențe. În același timp, acest indicator pentru paciențele cu stadiul IA și IB a fost de 94,2% (Î 95% [89,0-98,1]), respectiv 92,7% (Î 95% [87,1-97,3]). Supraviețuirea generală la trei ani pentru paciențele cu CE în stadiul II a constituit 74,2% (Î 95% [71,0-79,6]).

Din 269 de paciențe cu CE în stadiile I-II incluse în studiu, recidivele și metastazele au fost observate la 20 (7,4%; Î 95% [4,3-10,6]) paciențe. Dintre acestea, 3 (1,1%; Î 95% [0,0-2,4]) paciențe au fost diagnosticate cu recidive ale bolii, 17 (6,3%; Î 95% [3,4-9,2]) - cu metastaze. După cum urmează din cele expuse de mai sus, la paciențele cu CE în stadiile I-II, metastazele au apărut de 5,7 ori mai des decât recidivele.

Datorită analizei retrospective, au fost relevate o serie de semne morfologice nefavorabile care influențează apariția recidivelor și metastazelor la paciențele cu CE în stadiile I-II: forme histologice rare de CE și adenocarcinom endometrioid cu metaplasie a celulelor scuamoase, invazia mai mult de 50% în miometru, adâncimea de invazie a tumorii în miometru >1 cm și stromă $>0,5$ cm, grad moderat și crescut de anaplasie celulară și nucleară a tumorii, prezența invaziei limfovaskulare, densitate mare de microvase în zona cu cea mai mare invazie și prezența focarelor de necroză în tumoră.

S-a determinat că markerul Ki-67 are o valoare predictivă în raport cu supraviețuirea paciențelor cu cancer endometrial. Astfel, expresia înaltă a factorului de proliferare Ki-67 reduce supraviețuirea fără recidivă până la $15,3 \pm 2,21$ (Î 95% [11,1-19,7]) luni. Timpul mediu până la progresie la paciențele din grupul de risc crescut a fost de $13,5 \pm 4,50$ (Î 95% [9,0-18,0]) luni, la paciențele din grupul de risc scăzut - $15,8 \pm 3,36$ (Î 95% [10,5-23,0]) luni ($F=0,066$; $p=0,937$), care poate indica valoarea prognostică a acestui indicator pentru detectarea semnelor precoce de progresie.

Rezultatele analizei supraviețuirii generale la pacientele din grupurile de studiu, în funcție de prezență epimutației *MLH1* a arătat că 37,2% dintre femeile cu prezență epimutației *MLH1* și 87,2% fără epimutația *MLH1* au atins supraviețuire la 3 ani. Supraviețuirea la 3 ani fără recidivă s-a înregistrat la 6 pacientele cu CE cu prezență mutației în gena *MLH1*.

Timpul mediu până la progresie la pacientele cu mutație *PTEN* din grupul de risc scăzut a fost de $13,5 \pm 3,37$ (Î 95% [9,0-18,0]) luni, diferind semnificativ de cel la pacientele din grupul de risc crescut – $15,8 \pm 3,34$ (Î 95% [10,5-23,0]) luni ($F=16,2$; $p=0,891$).

6. PROGNOSTICUL EVOLUȚIEI CANCERULUI ENDOMETRIAL

6.1. Semnificația prognostică a caracteristicilor clinico-morfologice și molecular-genetice la pacientele cu cancer endometrial în stadiile I-II în funcție de grupul de risc

În rezultatul studiului noi am studiat semnificația prognostică a parametrilor clinico-morfologici în raport cu supraviețuirea globală și fără recidivare la 3 ani la 269 de paciente cu CE în stadiile I-II. A fost efectuat studiul valorii de prognostic al factorilor molecular-genetici în raport cu supraviețuirea globală și fără recidivare la 3 ani la 50 de paciente cu CE în stadiile I-II.

A fost efectuată o analiză multivariată, care a inclus mai mulți parametri clinico-morfologici și molecular-genetici: vârsta, IMC, stadiul bolii, gradul de diferențiere a tumorii, subtipul histologic al tumorii, profunzimea invaziei în miometru și canalul cervical, prezența infiltrației perilimfovasculare, prezența infiltrației perineurale, prezența focarelor de necroză, nivelul de expresie Ki-67, prezența epimutației în genă *PTEN* și hipermetilării promotorului *MLH1*.

Semnificația prognostică a semnelor în relație cu supraviețuirea globală și fără recidivare la 3 ani la pacientele cu CE în stadiile I-II a fost evaluată folosind software-ul IBM SPSS Statistics 26.0.

Pe baza numărului de recidive și decese la pacientele cu CE în stadiile I-II, în acest studiu a fost utilizată o analiză multivariată.

Ținând cont de natura distribuției datelor (distribuție normală și distribuție care diferă de normal, testul Kruskal-Wallis), pentru divizarea pacientelor au fost utilizate ca valoare de prag valorile medii (vârsta, IMC, adâncimea invaziei, Ki-67). Pacientele au fost monitorizate până la 36 de luni după tratamentul chirurgical.

Analiza a arătat că vârstă este un factor semnificativ statistic în supraviețuirea globală la trei ani a pacientelor cu CE în stadiile I-II. În același timp, stadiul bolii, profunzimea invaziei procesului tumoral în miometru, IMC, Ki-67 au fost factori semnificativi statistic ai supraviețuirii fără recidivă la trei ani la pacientele cu CE în stadiile I-II. Datele obținute indică faptul că IMC este un factor semnificativ în raport cu supraviețuirea fără recidivă în stadiile I-II ale CE, pe lângă cele tradiționale (stadiul bolii, adâncimea invaziei tumorale în miometru).

În același timp, pacientele cu obezitate severă (IMC >35) au avut un prognostic nefavorabil în comparație cu pacientele cu obezitate de gradul I, ceea ce este în concordanță cu datele din literatură [39]

Se știe că țesutul adipos este o sursă importantă de estrogen. În consecință, se poate presupune că la pacientele cu CE stadiile I-II cu obezitate severă, nivelul de estrogen din sânge în perioada postoperatorie va fi mai mare decât la pacientele fără sindrom metabolic. Și având în

vedere că estrogenii pentru majoritatea tumorilor endometriale sunt mitogeni și sunt implicați în progresia tumorii, este probabil că un nivel de estrogeni crescut la pacientele cu CE după tratament chirurgical radical să contribuie la apariția recidivei.

La analiza dependenței supraviețuirii globale și fără recidivare de nivelul Ki-67, s-a constatat, că rata de supraviețuire la distanța de 3 ani a pacientelor cu nivelul Ki-67 în tumori sub mediană (49%) a fost de 89%, comparativ cu rata de 68,5% atestată la pacientele cu indicele Ki-67 peste mediana de 49% ($p=0,02$).

Totodată, rata de supraviețuire a pacientelor din grupul de risc crescut a scăzut de la 89% la 71% la elevarea indicelui de proliferare peste 49% ($p=0,1$). În grupul de risc crescut, rata de supraviețuire la 3 ani a pacientelor cu indicele Ki-67 în tumoră sub 49% a fost de 80%, peste 49% - 63%, dar diferența este nesemnificativă statistic ($p=0,3$).

Astfel, conform rezultatelor studiului nostru, rata de supraviețuire la distanța de 3 ani a pacientelor din grupul de risc crescut cu un indice de proliferare sub 49% a fost semnificativ mai mare decât cea a pacientelor cu indicele $<49\%$, ceea ce este în concordanță cu datele unor altor cercetători [23, 30].

În plus, conform datelor studiului, activitatea proliferativă a adenocarcinomului endometrioid servește ca un indicator de prognostic independent al ratei de supraviețuire la distanța de 3 ani a pacientelor. Majoritatea cercetătorilor indică date similare cu ale noastre [89]. Spre deosebire de datele noastre, în studiile lui Halperin R. et al. (2001), nu a fost identificat efectul expresiei Ki-67 asupra rezultatelor supraviețuirii generale și fără recidivă la pacientele cu CE în stadiile I-II. Și în studiul lui Joffe O.V. et al. (1998) nu a fost depistată nicio influență a nivelului de expresie Ki-67 asupra ratei de supraviețuire la 3 ani a pacientelor cu CE [120].

Analiza indicatorilor de supraviețuire generală și fără recidivare la distanța de 3 ani la pacientele cu CE în stadiile I-II din grupul de risc crescut a arătat că, în general, acești indicatori sunt mai mari decât la pacientele cu CE stadiile I-II din grup de risc scăzut, iar la analiza ratei de supraviețuire la trei ani s-a evidențiat că, în această etapă, apar ca un factor care agravează prognosticul, în urma căruia rezultatele supraviețuirii globale și fără recidivare se deteriorează în comparație cu pacienții cu stadiile CE I-II din grupul de risc scăzut.

Evaluarea valorii prognostice a parametrilor clinici, morfologici și hormonalți asupra rezultatelor supraviețuirii globale și fără recidive a arătat că stadiul bolii este un factor semnificativ statistic în supraviețuirea globală la distanța de 3 ani a pacientelor cu CE. În același timp, gradul de diferențiere, Ki-67 a fost un factor statistic semnificativ al supraviețuirii fără recidivare la trei ani la pacientele cu CE.

6.2. Modelul matematic de prognostic al evoluției bolii la paciențele cu cancer endometrial în stadiile I-II

Comportamentul biologic al tumorilor rămâne destul de imprevizibil chiar și pentru paciențele cu cancer endometrial. În acest sens, este necesară crearea unor programe optime pentru evaluarea evoluției bolii în dependența de factori de risc și de prognostic. Determinarea factorilor de prognostic specifici care reflectă caracteristicile clinice, patologice și biologice ale pacientelor cu cancer va permite prezicerea rezultatului bolii, supraviețuirea și probabilitatea de recidivă la paciențele cu cancer endometrial.

Pentru a evalua prognosticul evoluției CE în stadiile I-II a fost efectuată o analiză discriminantă, care este una dintre metodele de rezolvare a așa-numitei probleme de clasificare - atribuirea obiectului studiat (de exemplu, pentru un pacient) la unul din mai multe grupuri în baza aprecierii unui anumit număr de semne și este utilizat în mod tradițional pentru a rezolva probleme de diagnosticare și prognoză [111,195].

Rezultatul analizei discriminante a fost un model statistic reprezentat de un set de funcții discriminante liniare care determină limitele luării deciziilor în favoarea unui anumit grup (clasă). Numărul de funcții discriminante liniare este egal cu numărul de grupuri.

Pentru a estima un prognostic al evoluției cancerului endometrial în stadiile I-II, a fost efectuată o evaluare vastă a principalilor indicatori clinici și morfologici, precum stadiul bolii, tipul histologic și gradul de diferențiere a tumorii, datele antropometrice, clinice și anamnestice, nivelul anumitor parametri sanguini, markeri imunohistochimici ai tumorii și markeri genetici moleculari în tumorile endometriale.

Au fost analizați în total 14 indicatori. A fost construit un model matematic de prognostic: pentru paciențele cu CE în stadiile I-II.

Vârsta medie a pacientelor a constituit (52,2 și, respectiv, 54,6 ani). Toate paciențele aveau stadiile I și II ale bolii, 90% dintre paciente aveau cancer endometrioid, 10% cancer non-endometrioid. Volumele de diagnosticare și tratament ale pacientelor cu CE în stadiile I-II au corespuns protocoalelor naționale pentru volumele de diagnostic și tratament al neoplasmelor maligne, aprobate de Ministerul Sănătății al Moldovei.

Criteriul pentru un prognostic favorabil a fost definit ca supraviețuire fără recidivă în termen de 36 de luni. Astfel, toate paciențele cu CE în stadiile I-II au fost împărțite în 2 loturi (2 clase) - cu prognostic favorabil și nefavorabil. În continuare, au fost calculate funcții discriminante liniare - combinații liniare de variabile (indicatori) incluse în modelul de forma $Y = a * x + b$, unde Y este valoarea funcției discriminante liniare; X este variabila definitorie, a este coeficientul la variabila definitorie; b este o constantă independentă.

Procedura de atribuire a unui obiect unei clase a fost efectuată în 2 etape:

- Calculul valorilor Y1 și Y2 utilizând valorile atributelor obiectului investigat.
- Obiectul a fost atribuit (pacienta cu CE în stadiile I-II uneia dintre clase (dacă $Y1 > Y2$, atunci obiectul aparține primei clase (rezultat nefavorabil); dacă $Y1 < Y2$, atunci obiectul aparține celei de-a doua clase (rezultat favorabil).

Procedura de analiză discriminantă a inclus următoarele etape:

1. Selectarea primară a caracteristicilor pentru construirea unui model;
2. Un set de exemple (grupuri de paciente în care sunt înregistrate semnele selectate);
3. Selectarea caracteristicilor informative și formarea unui grup de funcții diferențiale pe baza acestora;
4. Controlul calității modelului discriminant creat.

Analiza a fost efectuată folosind software-ul IBM SPSS Statistics 26.0. Indicatorii incluși în modelul matematic pentru a evalua prognosticul evoluției bolii la pacientele cu cancer endometrial sunt prezentați în tabelul 6.1.

Tabelul 6.1. Factorii de risc decisivi incluși în model pentru a evalua prognosticul evoluției bolii la pacientele cu CE în stadiile I și II

Denumirea factorilor de risc	Lambda Wilks	Toleranță	p
Vârstă	0,65137	0,77346	0,00015
Profundimea invaziei în miometru	0,57698	0,88573	0,01619
Gradul de diferențiere	0,56283	0,90336	0,04465
Dimensiunea tumorii primare	0,59191	0,83085	0,00589
Indicele INL	0,59657	0,79819	0,00433
Vârsta menopauzei	0,59707	0,85419	0,02034
Infertilitate	0,58378	0,84414	0,01830
Durata dereglării ciclului menstrual	0,57504	0,84660	0,01312
Stadiul bolii	0,61638	0,77200	0,00123
Invazia perilimfovaculară	0,57541	0,7865	0,00234
Invazia perineurală	0,59309	0,67421	0,00970
PTEN	0,55544	0,90359	0,02835
MLH 1	0,55329	0,86420	0,00978
Ki 67	0,54165	0,92120	0,02494

Au fost obținute următoarele funcții discriminante liniare:

$$Y_1 = 0,556 \cdot X_1 + 2,774 \cdot X_2 + 0,145 \cdot X_3 + 13,438 \cdot X_4 + 0,177 \cdot X_5 + 6,526 \cdot X_6 + 9,938 \cdot X_7 + 36,150 \cdot X_8 + (-0,881) \cdot X_9 + 3,589 \cdot X_{10} + 3,817 \cdot X_{11} + 0,012 \cdot X_{12} - 407,350$$

$$Y_2 = -2,179 \cdot X_1 + 1,987 \cdot X_2 + 0,186 \cdot X_3 + 14,173 \cdot X_4 + 0,027 \cdot X_5 + 6,846 \cdot X_6 + 9,622 \cdot X_7 + 38,367 \cdot X_8 + (-1,094) \cdot X_9 + 1,756 \cdot X_{10} + 3,399 \cdot X_{11} + 0,005 \cdot X_{12} - 416,584, \text{ unde}$$

X_1 - vârstă (1- reproductivă, 2 - perimenopauzală, 3 - menopauzală, 4 - postmenopauzală)

X_2 - profundimea invaziei în miometru (1 – până la 50%, 2 - peste 50%)

X_3 - gradul de diferențiere (1 - G1, 2 - G2, 3 - G3)

X_4 - dimensiunea tumorii primare (1 – până la 2 cm , 2-de la 2-5 cm, 3- mai mult de 5 cm)

X₅ - indexul INL

X₆ - vârsta menopauzei

X₇ - infertilitatea (0 - absentă, 1 - prezentă)

X₈ - durata dereglărilor ciclului menstrual

X₉ - stadiul bolii (1 - stadiul I, 2 - stadiul II)

X₁₀ - *PTEN* 1,0 (0 - absentă, 1 - prezentă)

X₁₁ - *MLH1* 1,0 (0 - absentă, 1 - prezentă)

X₁₂ - indexul de proliferare Ki 67 (1 - până la 49, 2 - peste 49)

X₁₃ - invazia perilimfovasculară (0 - absentă, 1 - prezentă)

X₁₄ - invazia perineurală (0 - absentă, 1 - prezentă)

Pentru toate grupurile, rezultatele calcului au fost evaluate după schemă: un rezultat favorabil - pacienta a fost în viață timp de cel puțin 36 de luni după efectuarea tratamentului, un rezultat nefavorabil - pacienta este în viață cu recidive sau metastaze sau pacienta a decedat.

La calcularea funcțiilor discriminante, obiectul (pacienta cu CE în stadiile I și II) a fost atribuit uneia dintre clase. Dacă $Y_1 > Y_2$, atunci obiectul aparține primei clase (prognostic nefavorabil) cu un nivel de semnificație $p < 0,05$, ceea ce înseamnă că riscul de a dezvolta un rezultat nefavorabil la pacientă este de 95%. Dacă $Y_1 < Y_2$, atunci obiectul aparține clasei a doua (prognostic favorabil) cu un nivel de semnificație $p < 0,05$, ceea ce înseamnă că riscul de a dezvolta un rezultat favorabil este de 95%.

Calitatea funcțiilor obținute a fost evaluată la 20 de paciente, care nu au fost incluse în eșantionul principal. Sensibilitatea și specificitatea modelului matematic dezvoltat au fost de 87% și 89%.

Exemplu 1.

Pacienta I., 56 de ani, a fost internată în secția 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 gradul II după NYHA, hipertensiune arterială gr. II, obezitate, maladie varicoasă a membrelor inferioare.

Istoricul bolii

Din anamneză s-a relevat că pacienta se consideră bolnavă timp de 4 luni, când a apărut metroragie în perioadă 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 5 ani anterior, fără tratament specific.

Anamneza ginecologică

Menarha - la 13 ani, regulate. Pacienta are un istoric de 8 sarcini, 3 nașteri și 5 avorturi. Menopauza – de la 52 ani. Patologie concomitentă pronunțată: hipertensiune arterială, diabet de tip 2, obezitate de gradul III.

Anamneza eredocolaterală

Patologie oncologică la rude de gradul 1-2 – nu cunoaște. Mama, sora mamei – au suferit de diabet zaharat tip 2.

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. Parametriile libere, indolare. Fornixurile libere, indolare. Eliminări sanguinolente moderate din căile genitale.

Rezultatul histopatologic postoperatoriu

Adenocarcinom endometrial de grad înalt de diferențiere cu invazia mai puțin de 50% din miometru. Se constată dezmoplazie glandulară, un infiltrat inflamator limfoplasmocitar intra- și peritumoral moderat. Nu se evidențiază invazie angiolimfatică. Nu se determină invazie perineurală. Colul uterin prezintă epiteliul de suprafață atrofic, unele glande dilatate chistic. Ovarile bilateral cu corpi albi, hiperplazia stromei și hialinoza vaselor. Trompele cu scleroză.

Concluzie: aspectul histologic descris corespunde unui adenocarcinom endometrioid, grad FIGO I, stadiu FIGO IA, pT1aLV10PN10.

S-a efectuat studiul profilului imunohistochimic și molecular-genetic al tumorii endometriale. La pacientă s-a efectuat determinarea mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN* și hipermetilării promotorului în gena *MLH1*.

S-a depistat nivel crescut de expresie Ki-67 (44%), prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN*.

În prezent, pacienta este sub observație timp de 24 de luni. În timpul examinării ulterioare, au fost obținute date privind recidiva locală, confirmate prin examenul histopatologic. În acest caz, influența negativă a markerilor genetici imunohistochimici și moleculari asupra prognosticului a fost realizată printr-un nivel crescut de expresie a Ki-67 și prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN*.

Prognosticul evoluției cancerului endometrial a fost calculat conform formulei elaborate (pentru pacientele cu CE în stadiile I-II).

În prima etapă, funcțiile discriminante Y1 și Y2 au fost calculate ținând cont de indicatorii individuali:

$$Y_1 = 0,556 \cdot 3 + 2,774 \cdot 1 + 0,145 \cdot 1 + 13,438 \cdot 1 + 0,177 \cdot 3,29 + 6,526 \cdot 4 + 9,938 \cdot 0 + 36,150 \cdot 10 + (-0,881) \cdot 1 + 3,589 \cdot 1 + 3,817 \cdot 1 + 0,012 \cdot 0 - 407,350 = 432,872$$

$Y_2 = -2,179 \cdot 3 + 1,987 \cdot 1 + 0,186 \cdot 1 + 14,173 \cdot 1 + 0,027 \cdot 3,29 + 6,846 \cdot 4 + 9,622 \cdot 0 + 38,367 \cdot 10 + (-1,094) \cdot 1 + 1,756 \cdot 1 + 3,399 \cdot 1 + 0,005 \cdot 0 - 416,584 = 429,731$, unde

X_1 – vârstă=3

X_2 - profunzimea invaziei în miometru=1

X_3 - gradul de diferențiere =1

X_4 - dimensiunea tumorii primare =1

X_5 - indexul INL =3,29

X_6 - vârsta menopauzei =4

X_7 - infertilitatea =0

X_8 - durata dereglărilor ciclului menstrual =10

X_9 - stadiul bolii =1

X_{10} - *PTEN* 1,0 =1

X_{11} - *MLH1* 1,0 =0

X_{12} - indexul de proliferare Ki 67 =1

X_{13} - invazia perilimfovasculară 0 – absentă

X_{14} - invazia perineurală 0 – absentă

Astfel, s-a dovedit că $Y_1 > Y_2$, atunci obiectul aparține clasei I (prognostic nefavorabil) cu un nivel de semnificație de $p < 0,05$, ceea ce înseamnă că riscul de a dezvolta un rezultat nefavorabil la această pacientă este de 95%.

La examinarea ulterioară, după 12 luni, a fost depistată o formațiune tumorală în regiunea bontului vaginal, cu dimensiunea de până la 4 mm. S-a luat biopsia din formațiunea tumorală, la examenul histopatologic s-a depistat adenocarcinom. Pacienta a primit o cură de DHT SOD 44 Gy. Ulterior, după 18 luni, pacienta s-a plâns de durere în articulația șoldului drept.

Radiografia și scintigrafia oaselor pelviene au evidențiat metastaze în femurul piciorului drept, în legătură cu care a fost efectuat o cură de DHT (local) pe zona femurului drept, COD 36 Gy. În ianuarie 2020, pacienta nu s-a prezentat la examinarea de control, deoarece din cauza unei afecțiuni grave cauzate de progresia procesului, se află la tratament simptomatic la locul de trai. Perioada de monitorizare a constituit 24 luni.

Exemplul 2

Pacienta L., 67 de ani, s-a aflat în secția Oncoginecologie IMSP IO cu diagnosticul clinic de cancer endometrial T1bNxMo st.IB confirmat prin rezultatul histopatologic adenocarcinom endometrial moderat diferențiat.

Istoricul bolii

La internare, pacienta prezenta acuze la metroragie în menopauză timp de 4 luni pe fondul

menopauzei de 17 ani. La locul de trai i s-a efectuat chiuretajul diagnostic al cavității uterine cu concluzia histopatologică: adenocarcinom endometrial moderat diferențiat. La CCD IO s-a efectuat revizuirea preparatelor histologice, concluzia: adenocarcinom endometrial cu grad înalt de diferențiere.

Anamneza ginecologică

Menarha - la 13 ani, regulate. Pacienta are un istoric de 4 sarcini, 2 nașteri și 2 avorturi. Menopauza – de la 50 ani. La o examinare ulterioară, a fost relevată o patologie concomitentă: hipertensiune arterială, diabet de tip 2, obezitate de gradul II.

Anamneza eredocolaterală

Patologie oncologică la rude de gradul 1-2 – nu cunoaște.

Status localis

Organele genitale externe dezvoltate corect. Vaginul curat, indolor. Colul uterin curat, indolor, mobil. Uterul de dimensiuni 5 săptămâni, dur-elastic la palpare, indolor. Parametriile libere, indolore. Fornixurile libere, indolore. Eliminări sanguinolente moderate din căile genitale.

Tratamentul chirurgical s-a efectuat în volum de extirpație a uterului cu anexele și radioterapie combinată conform programului: RTE 44 Gy., brahiterapie 25 Gy.

Rezultatul histopatologic postoperatoriu

Adenocarcinom endometrioid de grad moderat de diferențiere cu invazia mai puțin de 50% din miometru. Se constată dezmoplazie glandulară, în infiltrate inflamator limfoplasmocitar intra- și peritumoral moderat. Nu se evidențiază invazie angiolimfatică. Nu se determină invazie perineurală. Colul uterin prezintă epiteliul de suprafață atrofic, unele glande dilatate chistic. Ovarile bilateral cu corpi albi, hiperplazia stromei și hialinoza vaselor. Trompele cu scleroză.

Concluzie: aspectul histologic descris corespunde unui adenocarcinom endometrioid, grad FIGO II, stadiu FIGO IA, pT1aLVIPNIO.

Pacienta prezintă semne de sindrom metabolic: hipertensiune arterială esențială gr. II, obezitate de gradul II, diabet zaharat de tip II, prin urmare, modelul matematic dezvoltat a fost folosit pentru a prognoza evoluția bolii.

S-a efectuat studiul profilului imunohistochimic și molecular-genetic al tumorii endometriale. La pacientă s-a efectuat determinarea mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN* și hiperemetilării promotorului în gena *MLH1*.

S-a depistat nivel scăzut de expresie Ki-67 (29%), absența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN* și hiperemetilării promotorului în gena *MLH1*

Luând în considerare indicatorii individuali, au fost calculați indicii Y1, Y2.

$$Y_1 = 0,556 \cdot 1 + 2,774 \cdot 3,45 + 0,145 \cdot 50,69 + 13,438 \cdot 13 + 0,177 \cdot 0,63 + 6,526 \cdot 50 + 9,938 \cdot 19 + 36,150 \cdot 2 + (-0,881) \cdot 7 + 3,589 \cdot 2 + 3,817 \cdot 6 + 0,012 \cdot 102,31 - 407,350 = 397,49386$$

$$Y_2 = -2,179 \cdot 1 + 1,987 \cdot 3,45 + 0,186 \cdot 50,69 + 14,173 \cdot 13 + 0,027 \cdot 0,63 + 6,846 \cdot 50 + 9,622 \cdot 19 + 38,367 \cdot 2 + (-1,094) \cdot 7 + 1,756 \cdot 2 + 3,399 \cdot 6 + 0,005 \cdot 102,31 - 416,584 = 400,3981, \text{ unde}$$

X_1 – vârstă=4

X_2 - profunzimea invaziei în miometru=1

X_3 - gradul de diferențiere =1

X_4 - dimensiunea tumorii primare =1

X_5 - indexul INL =2,29

X_6 - vârsta menopauzei =17

X_7 - infertilitatea =0

X_8 - durata dereglărilor ciclului menstrual =20

X_9 - stadiul bolii =1

X_{10} - *PTEN* 1,0 =0

X_{11} - *MLH1* 1,0 =0

X_{12} - indexul de proliferare Ki 67 =29

S-a dovedit că $Y_1 < Y_2$, atunci obiectul aparține clasei a doua (prognostic favorabil) cu un nivel de semnificație de $p < 0,05$, ceea ce înseamnă că riscul de a dezvolta un rezultat favorabil este de 95%.

Pacienta este sub observație dinamică timp de 6 ani fără semne de progresie a bolii.

Exemplul 3

Pacienta K., în vârstă de 56 de ani, a fost internată în secția Oncoginecologie a IMSP IO cu diagnosticul de internare: suspiciune de CE pe fon de metroragie în menopauză.

Istoricul bolii

La internare, pacienta prezenta acuze la metroragie în menopauză timp de un an pe fondul menopauzei. În secție s-a efectuat chiuretaj diagnostic, care a confirmat diagnosticul de cancer. Rezultatul histopatologic: adenocarcinom slab diferențiat al endometrului.

Anamneza ginecologică

Menarha - la 13 ani, regulate. Pacienta are un istoric de 4 sarcini, 2 nașteri și 2 avorturi. Menopauza – 16 ani. La o examinare ulterioară, a fost relevată o patologie concomitentă: hipertensiune arterială, diabet de tip 2, obezitate de gradul II.

Anamneza eredocolaterală

Patologie oncologică la rude de gradul 1-2 – nu cunoaște.

Status localis

Organele genitale externe dezvoltate corect. Vaginul curat, indolor. Colul uterin curat, indolor, mobil. Uterul de dimensiuni 7 săptămâni, dur-elastic la palpare, indolor. Parametriile

libere, indolore. Fornixurile libere, indolore. Eliminări sanguinolente moderate din căile genitale.

Tratamentul combinat a fost efectuat în volum de: histerectomie totală cu anexele bilateral și tratament radiant conform programului radical.

Rezultatul histopatologic postoperatoriu

Adenocarcinom seros de grad moderat de diferențiere cu invazia mai puțin de 50% din miometru. Se constată dezmozplazie glandulară, în infiltrate inflamator limfoplasmocitar intra- și peritumoral moderat. Nu se evidențiază invazie angiolimfatică. Nu se determină invazie perineurală. Colul uterin prezintă epiteliul de suprafață atrofic, unele glande dilatate chistic. Ovarile bilateral cu corpi albi, hiperplazia stromei și hialinoza vaselor. Trompele cu scleroză.

Concluzie: aspectul histologic descris corespunde unui adenocarcinom seros, grad FIGO II, stadiu FIGO IA, pT1aLVIPNIO.

La pacientă s-a efectuat studiul profilului imunohistochimic și molecular-genetic al tumorii endometriale. La pacientă s-a efectuat determinarea mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN* și hipermetilării promotorului în gena *MLH1*.

S-a depistat nivel crescut de expresie Ki-67 (60%), prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN* și hipermetilării promotorului în gena *MLH1*

Pentru prognosticul evoluției bolii am utilizat modelul mathematic de prognostic.

$$Y_1 = 25,783 \cdot 2 + 38,864 \cdot 15 + 10,737 \cdot 96 + 11,402 \cdot 0,81 + 2,517 \cdot 3 + 1,259 \cdot 56 + 1,321 \cdot 5,03 + 6,434 \cdot 1 + 4,371 \cdot 5,25 - 893,598 = 894,997$$

$$Y_2 = 29,096 \cdot 2 + 39,324 \cdot 15 + 11,173 \cdot 96 + 13,889 \cdot 0,81 + 3,132 \cdot 3 + 1,103 \cdot 56 + 0,649 \cdot 5,03 + 8,306 \cdot 1 + 3,883 \cdot 5,25 - 936,867 = 898,1633, \text{ unde}$$

X_1 – vârstă=3

X_2 - profunzimea invaziei în miometru=1

X_3 - gradul de diferențiere =1

X_4 - dimensiunea tumorii primare =1

X_5 - indexul INL =3,29

X_6 - vârsta menopauzei =4

X_7 - infertilitatea =0

X_8 - durata dereglărilor ciclului menstrual =10

X_9 - stadiul bolii =1

X_{10} - *PTEN* 1,0 =1

X_{11} - *MLH1* 1,0 =1

X_{12} - indexul de proliferare Ki 67 =60

Astfel, pentru pacienta dată, $Y_1 < Y_2$, astfel pacienta are un prognostic favorabil cu un

nivel de semnificație $p < 0,05$. Cu observare dinamică timp de 26 de luni, nu există date pentru progresarea procesului la pacientă.

Exemplul 4

Pacienta A., 62 de ani, a fost internată în secția de Oncoginecologie, IMSP IO cu acuze la spotting din căile genitale pe fondul postmenopauzei de 15 ani.

Istoricul bolii

La internare, pacienta prezenta acuze la metroragie în menopauză timp de un an pe fondul menopauzei. În secție s-a efectuat chiuretaj diagnostic, care a confirmat diagnosticul de cancer. Rezultatul histopatologic: adenocarcinom slab diferențiat al endometrului.

Anamneza ginecologică

Menarha-la 13 ani, regulate. Pacienta are un istoric de 4 sarcini, 2 nașteri și 2 avorturi. Menopauza – 15 ani. La o examinare ulterioară, a fost relevată o patologie concomitentă: hipertensiune arterială, obezitate de gradul II.

Anamneza eredocolaterală

Patologie oncologică la rude de gradul 1-2 – nu cunoaște.

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. Parametriile libere, indolare. Fornixurile libere, indolare. Eliminări sanguinolente moderate din căile genitale.

Examenul ecografic al bazinului mic a evidențiat o creștere a dimensiunii uterului până la 6 săptămâni și o creștere a ecoului $M=11$ mm, în legătură cu care pacienta a fost supusă chiuretajului diagnostic al cavității uterine. Concluzie histopatologică: adenocarcinom seros a endometrului. Pacienta a fost supusă unui tratament chirurgical în volum de: histerectomie totală cu anexe bilateral. Apoi a fost efectuat tratament radiant postoperatoriu de DHT SOD 44 Gy.

Rezultatul histopatologic postoperatoriu

Adenocarcinom endometrioid de grad moderat de diferențiere cu invazia mai puțin de 50% din miometru. Se constată dezmoplazie glandulară, în infiltrate inflamator limfoplasmocitar intra- și peritumoral moderat. Nu se evidențiază invazie angiolimfatică. Nu se determină invazie perineurală. Colul uterin prezintă epiteliul de suprafață atrofic, unele glande dilatate chistic. Ovarele bilateral cu corpi albi, hiperplazia stromei și hialinoza vaselor. Trompele cu scleroză.

Concluzie: aspectul histologic descris corespunde unui adenocarcinom seros, grad FIGO II, stadiu FIGO IA, pT1aLVI0PNI0.

La pacientă s-a efectuat studiul profilului imunohistochimic și molecular-genetic al tumorii endometriale. La pacientă s-a efectuat determinarea mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN* și hiperemetilării promotorului în gena *MLH1*.

S-a depistat nivel crescut de expresie Ki-67 (51%), prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) în gena *PTEN*, prezența mutației în gena *MLH1*.

Luând în considerare absența semnelor sindromului metabolic, a fost calculat un prognostic individual pentru pacientă conform formulei dezvoltate.

$$Y_1 = 25,783 \cdot 3 + 38,864 \cdot 1 + 10,737 \cdot 1 + 11,402 \cdot 1 + 2,517 \cdot 3,29 + 1,259 \cdot 4 + 1,321 \cdot 0 + 6,434 \cdot 10 + 4,371 \cdot 1 - 893,598 = 917,0642$$

$$Y_2 = 29,096 \cdot 1 + 39,324 \cdot 15 + 11,173 \cdot 99 + 13,889 \cdot 0,76 + 3,132 \cdot 2 + 1,103 \cdot 62 + 0,649 \cdot 20,8 + 8,306 \cdot 1 + 3,883 \cdot 3,04 - 936,867 = 907,0312, \text{ unde}$$

X_1 – vârstă=3

X_2 - profunzimea invaziei în miometru=1

X_3 - gradul de diferențiere =1

X_4 - dimensiunea tumorii primare =1

X_5 - indexul INL =3,29

X_6 - vârsta menopauzei =4

X_7 - infertilitatea =0

X_8 - durata dereglărilor ciclului menstrual =10

X_9 - stadiul bolii =1

X_{10} - *PTEN* 1,0 =1

X_{11} - *MLH1* 1,0 =0

X_{12} - indexul de proliferare Ki 67 =51

În acest caz, $Y_1 > Y_2$, astfel, pacienta are un prognostic nefavorabil cu un nivel de semnificație de $p < 0,05$. Monitorizare pacientei a diagnosticat semne de metastază la distanță – în parenchimul hepatic la 13 luni.

6.3 Concluzii la capitolul 6

1. Analiza criteriilor informative de includere în modelul matematic pentru prezicerea evoluției bolii la pacientele cu cancer endometrial, arată că modelul se caracterizează prin prezența indicatorilor moleculari-genetici în formulă, care sunt criterii directe pentru prezicerea bolii, dar care sunt în strânsă legătură cu factorii clinic-morfologici (vârstă, histotip, grad de diferențiere, dimensiunea tumorii primare, prezența invaziei perilimfovaskulare, focare de necroză).

2. Prezintă interes că, modelul pentru pacientele cu cancer endometrial a inclus indicatori precum dimensiunea tumorii primare, ceea ce se poate datora faptului că pacienții cu un prognostic

nefavorabil al evoluției bolii sunt mult mai susceptibili de a avea tumori primare cu un diametru de peste 2 cm și gradul de diferențiere variabil.

3. Semnificația nivelului INL ca indicator de prognostic pentru CE în stadiile I-II este recunoscută și contestată [21]. În studiul nostru, s-a dovedit că acest factor este important pentru pacientele cu CE în stadiile I-II, deoarece este un factor direct independent în prognosticul recurenței și supraviețuirea globală la trei ani.

4. Unul dintre factorii de prognostic predictiv este prezența mutațiilor *PTEN*, *MLH1* în serul sanguin și nivelul de expresie a Ki-67 în tumoră.

5. În concluzie, trebuie remarcat faptul că modelele matematice dezvoltate fac posibilă construirea unui prognostic individual pentru evoluția bolii și, în conformitate cu aceasta, efectuarea planificării individuale a tratamentului.

SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE

Interesul sporit pentru studiul diferitelor aspecte ale patogenezei și factorilor de prognostic al CE în stadiile I-II se datorează creșterii constante a incidenței CE [40, 115]. În ultimii 20 de ani incidența CE în Republica Moldova a crescut de 2 ori și se ridică la 402 cazuri la 100 mii de populație [41].

Majoritatea experților consideră problemele incidenței și patogenezei CE în strânsă relație cu procesele hiperplazice ale endometrului. Potrivit unui număr de autori, creșterea incidenței proceselor hiperplazice și a CE este asociată cu creșterea progresivă a unor astfel de „boli ale civilizației” precum tulburarea de ovulație, hiperestrogenemia cronică, infertilitatea, fibromul uterin în combinație cu tulburări metabolice precum obezitatea, hiperlipidemia, hiperinsulinemia, diabetul zaharat [16].

Conform conceptelor moderne, componentele sindromului metabolic (obezitate, rezistență la insulină, dislipidemie) sunt factori independenți în reparația CE, care se datorează unui număr de mecanisme patogenetice [5, 34]. Cu toate acestea, unele aspecte patogenetice ale dezvoltării recidivelor CE, rămân nestudiate. Sindromul metabolic crește semnificativ riscul de recidive și mortalitate la pacienții cu CE, care este asociat cu inhibarea reactivității imunologice, rezistența antitumorală, efectul asupra proceselor de angiogeneză și metastază, precum și inducerea unei comorbidități suplimentare asociate cu tulburări ale carbohidraților și metabolismul lipidic, inclusiv patologia cardiovasculară și renală [21]. Acest lucru se datorează capacității sistemului endocrin de a influența procese precum invazia și metastaza (atât în ceea ce privește stimularea, cât și limitarea acestora).

Echilibrul proceselor proliferative, diferențierea și apoptoza este cheia funcționării normale a celulelor. Transformarea malignă a celulelor se bazează pe activarea oncogenelor celulare unice sau multiple sau a genelor supresoare [101].

Mutațiile genei *PTEN*, genei supresoare tumorale și instabilitatea microsatelitică sunt evenimente genetice comune în CE și sunt tipice pentru carcinoamele endometrioide, care influențează notabil procesul de declanșare, creștere și metastazare, precum și prognosticul pacienților cu CE [41, 177, 202].

Inflamația joacă un rol important în proliferarea celulelor tumorale, angiogeneză, metastazare și protejează tumora de sistemul imun. Micromediul tumorii este unul dintre factorii importanți care îi afectează agresivitatea, capacitatea de progresie și metastazare. În cazul celulelor tumorale, astfel de evenimente pot duce la invazia semnificativă a țesuturilor normale și metastaze în detrimentul prognosticului scontat.

Sub aspect fiziopatologic sunt abordate mai multe conotații, rezolvarea cărora are valoarea conceptuală și practică incontestabilă privind probleme CE. În primul rând, aportul mutațiilor genelor supresoare ale tumorii, la care noimă se impune în mod deosebit mutația genei *PTEN*, genă identificată în anul 1997, localizată în cromozomul X și care controlează inhibitor proliferarea și creșterea celulară prin intermediul enzimei cu activitate de fosfatază asupra proteinelor și lipidelor. Prin defosforilarea diferitor structuri proteice și lipidice fosfatază genei *PTEN* inactivează mediatorii intracelulari care promovează efectul mitogen și de creștere al diferitor factori endogeni, inclusiv și al insulinei.

Astfel, cercetarea incidenței mutației genei *PTEN* la pacientele cu CE este o abordare actuală a oncologiei, precum și demonstrarea fezabilității diagnostice și prognostice a markerului proliferării celulare, Ki-67, un predictor al mai multor tipuri de cancer.

Pe de altă parte, aportul sistemului imun în declanșarea și, totodată, în contracararea procesului cancerigen rămâne o fațetă importantă și a CE. În acest context, este autentică și importantă cercetarea interfeței patogenetice care include actorii răspunsului imun celular nespecific, deci neutrofilele, precum și fezabilitatea de predicție a modificării numărului lor periferic și/sau a raportului neutrofile/limfocite.

Cu referire la strategia multimarker abordată în medicină la ora actuală este oportun consolidarea unui algoritm de marker cu valoare predictivă concludentă asupra diagnosticului precoce al CE, cât și asupra prognosticului maladiei. Este inteligibil, că acest algoritm trebuie să include prioritar markeri genetici, markeri ai proliferării celulare, markeri ai inflamației, markeri ai stresului oxidativ, etc.

Toate cele menționate mai sus au configurat scopul studiului - studierea unor aspecte patogenetice ale CE ale diferitelor grupuri de risc, influența factorilor genetici moleculari asupra evoluției, prognosticului și eficacității tratamentului EC și importanța acestuia ca factor de prognostic oncologic la pacientele cu CE.

Pentru a atinge acest scop au fost rezolvate următoarele obiective:

- Caracteristici anamnestice și fenotipice relevate la pacientele cu CE,
- Rolul relației între funcția ovariană-menstruală la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc și particularitățile caracteristicilor clinice și morfologice ale CE,
- A fost determinat nivelul markerului de proliferare Ki-67,
- A fost determinată prezența mutației în gena supresoare *PTEN* la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc,
- A fost determinată prezența epimutației promotorului *MLH1* la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc,
- S-a studiat influența markerilor clinici, imunohistochimici și molecular-genetici

asupra evoluției CE,

- În rezultatul cercetărilor bazate pe studii clinico-morfologice, imunohistochimice și molecular-genetice a fost elaborat un model matematic pentru prezicerea riscului de cancer la pacientele din diferite grupuri de risc.

Analiza sănătății reproductive a pacientelor studiate a arătat că în grupurile de risc intermediar-crescut și crescut, s-a înregistrat un număr semnificativ mai mare de sarcini ($7,5 \pm 2,4$, $p < 0,05$), în principal din cauza avorturilor medicale ($5,39 \pm 1,7$, $p < 0,05$); în timp ce numărul de nașteri ($1,95 \pm 0,9$, $p < 0,05$) la aceste paciente a fost semnificativ mai mic. Pacientele cu CE din grupul de risc intermediar-crescut și crescut au avut dereglări ale ciclului ovarian-menstrual, care s-au manifestat prin hemoragii uterine disfuncționale (95%, $p < 0,05$). La pacientele cu CE din grupul de risc scăzut, s-a observat mai des infertilitate secundară (69%), menarha precoce ($13,12 \pm 4,6$, $p < 0,05$), vârsta menopauzei a fost mai mare ($51,85 \pm 12,89$, $p < 0,05$) și, în consecință, durata funcției menstruale ($38,67 \pm 12,18$, $p < 0,05$).

Rezultatele obținute sunt în concordanță cu rezultatele altor cercetători, unde s-a demonstrat că se observă un risc crescut de recidivă a CE la pacientele cu debut precoce a menarhei, vârsta menopauzei peste 60 de ani, număr redus de nașteri, infertilitate [50,62].

Datele obținute cu privire la nivelul INL (indicele neutrofile/limfocite) la pacientele cu CE indică o creștere semnificativă a indicelui în grupul de risc crescut ($0,52 \pm 0,06$, $p < 0,05$). De asemenea, s-a observat că nivelul INL a fost semnificativ mai mare în grupul de risc intermediar-crescut, comparative cu grupul de risc scăzut.

S-a evidențiat interrelația parametrilor sanguini cu principalii parametri clinici și morfologici la pacientele cu CE. La pacientele cu CE din grupul de risc crescut, nivelul INL corelează cu vârsta, stadiul bolii, gradul de diferențiere, răspândirea procesului tumoral în canalul cervical, profunzimea invaziei tumorale în miometru.

Studiul nivelului de expresie a markerului de proliferare Ki-67 la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc a relevat dependența semnificativă a acestuia de vârsta pacientelor, durata ciclului menstrual, numărul de nașteri și vârsta menopauzei. În plus, s-a determinat că valoarea expresiei markerului Ki-67 se modifică în funcție de gradul de diferențiere a tumorii și de stadiul bolii: profunzimea invaziei de invazie în miometru și răspândirea tumorii în canalul cervical.

Conform literaturii de specialitate, un procent înalt de Ki-67 este asociat cu un prognostic nefavorabil al bolii, iar „pragul” Ki-67, care determină prognosticul evoluției CE, variază între 33-51% [101]. Valoarea medie a markerului Ki-67 pentru pacientele cu CE din grupul de risc crescut a fost de 49%, ceea ce corespunde în general datelor unor cercetători [110].

Analiza rezultatelor studiului prezenței mutației supresoare tumorale *PTEN* în tumorile endometriale a arătat că mutația genei *PTEN* este în general determinată indiferent de grupul de

risc și se corelează cu parametrii clinici și morfologici - vârsta și faza ciclului menstrual, stadiul bolii, gradul de diferențiere a tumorii, profunzimea invaziei și afectarea canalului cervical. Cel mai des, mutația *PTEN* a fost detectată la paciențele cu adenocarcinom slab diferențiat, cu invazia în miometru mai mult de 50% și răspândirea procesului tumoral în canalul cervical.

La studierea mutației promotorului genei *MLH1*, s-a constatat că paciențele cu adenocarcinom endometrial în 21-35% dintre cazuri sunt purtătoare ale acestei mutații, în timp ce frecvența de detectare a mutației genei *MLH1*, conform datelor noastre, corelează cu stadiul bolii, profunzimea invaziei în miometru și răspândirea în canalul cervical.

Incidența epimutației promotorului *MLH1* la paciențele din grupul de risc scăzut a constituit 13%. Cu toate acestea, observarea dinamică a acestor pacienți a arătat că în toate cazurile au existat recidive ale bolii de bază în primii doi ani după tratamentul cancerului endometrial. Astfel, acest studiu demonstrează importanța detectării epimutației *MLH1* în ceea ce privește prezicerea recidivei CE la paciențele după tratament.

Astfel, mutațiile *PTEN* și *MLH1* joacă un rol important în patogeneza creșterii tumorii și sunt asociate cu agresivitatea evoluției clinice a bolii [11, 49]. Studiile moleculare au relevat faptul că proteina mutantă *PTEN* se acumulează în nucleee și se observă cel mai des în adenocarcinoamele seroase, iar în cancerul de tip I (carcinoamele endometrioidale) se depistează destul de rar [69, 100], ce, în general, corespunde datelor noastre privind prezența predominantă a *PTEN* în grupul de paciențe cu risc crescut, care a inclus, în principal, tumori non-endometrioidale.

La paciențele cu CE, frecvența mutațiilor genei *PTEN* este în strânsă legătură cu gradul de diferențiere a tumorii, stadiul procesului tumoral, prevalența și profunzimea invaziei tumorale. Dependența mutației genei *PTEN* de profunzimea invaziei și stadiul bolii a fost mai pronunțată în grupul de risc ridicat.

În același timp, la studierea mutației genei *PTEN* la paciențele cu carcinoame non-endometriale, s-a relevat că în grupul de paciențe cu risc scăzut, mutația *PTEN* a fost observată mai des decât în cancerul endometrioid (85% și 15%, respectiv).

Observarea dinamică a pacientelor cu CE purtătoare ale mutației *PTEN* (n=12) timp de 3 ani a relevat o evoluție nefavorabilă a bolii, care s-a manifestat fie prin reapariția adenocarcinomului endometrial (n=5), fie prin apariția metastazelor (n=4).

Astfel, prezența mutației *PTEN* la paciențele cu CE a fost asociată cu un risc sporit de recidivă și metastază, ceea ce este în concordanță cu constatările lui Lacey J. V. et al. [100].

Între timp, în conformitate cu ipoteza „inflamației cronice”, care joacă un rol principal în proliferarea celulelor tumorale, angiogeneza și metastazarea, devine evident punctul de plecare pentru dezvoltarea patologiei endometriale și, aparent, a patologiei sistemului reproductiv la paciențe în general, deoarece neutrofilele sunt capabile să producă o varietate de citokine și

chemokine, care pot influența răspunsul inflamator, precum și răspunsul imun al organismului sunt strâns asociate cu indicatori ai sferei reproductive [21].

În general, rezultatele obținute sunt în concordanță cu datele din literatură privind dependența nivelului INL în sângele pacientelor de stadiul, gradul de diferențiere și profunzimea invaziei în miometru al CE [110] și, aparent, acești parametrii clinico-morfologici determină într-o măsură mai mare aceste interdependențe. În același timp, nivelul INL la pacientele cu epimutație *PTEN* a fost semnificativ mai mare decât la pacientele fără această mutație (25% și, respectiv, 7%, $p<0,05$).

În baza rezultatelor obținute și a datelor din literatură, se poate presupune că inflamația, aparent, joacă un rol principal în stimularea carcinogenezei, deoarece numai acest indicator a fost strâns legat de aproape toți parametrii clinici și morfologici.

A fost studiată dependența nivelului INL de prezența a unei mutații în gena supresoare a tumorii *PTEN*. Datele obținute cu privire la nivelul componentelor sanguine la pacienții cu cancer endometrial fac posibilă introducerea de noi prevederi în schema presupusului rol al inflamației în patogeneza CE.

Rezultatele studierii celulelor sistemului imun la pacientele cu CE din grupul de risc sporit au arătat prezența unor diferențe atât cantitative, cât și calitative în comparație cu pacientele cu CE din grupul de risc scăzut. În rândul pacientelor cu CE din grupul de risc crescut, se observă o creștere a numărului de paciente cu un nivel crescut de neutrofile, comparativ cu pacientele cu CE din grupul de risc scăzut (51% și, respectiv, 29%, $p<0,05$). Pe măsură ce diferențierea morfologică a adenocarcinomului crește, numărul de neutrofile din sângele pacientelor cu CE din ambele grupuri scade de la $128\pm42,8$ la pacientele cu CE slab diferențiat la $101,4\pm21,5$ cu un grad înalt de diferențiere.

Rezultatele studiului nostru sunt în concordanță cu datele din literatură [15, 57]. Poate că aceste relații se datorează faptului că substanțele active care sunt produse de celulele sistemului imun (în principal citokine și un număr de alte substanțe biologic active) afectează organul țintă local - endometrul [3, 76].

Se cunoaște că trombocitele, macrofagele și fibroblaștii din mediul tumoral pot îmbunătăți proliferarea celulară și pot influența procesele de apoptoză [78, 112]. În acest caz, influența asupra proceselor de moarte celulară programată este cel mai probabil realizată; indirect prin factorii de creștere endoteliali, care, la rândul lor, sunt exprimați în aproape toate țesuturile cunoscute și sunt implicați în reglarea proceselor celulare; proliferarea, migrarea, aderența și limitarea apoptozei [110]. La nivel molecular, produsele reactive de oxigen și azot, precum și aldehydele produse în timpul infecției cronice de către efectorii inflamatori, pot induce leziuni ale ADN-ului, mutații genetice și modificări post-translaționale ale proteinelor cheie asociate cu carcinogeneza în

celulele epiteliale [181, 182]. Alte produse ale inflamației, cum ar fi citokinele proinflamatorii, radicalii liberi de oxigen și factorii de creștere, controlează expresia genelor supresoare și a oncogenelor.

Analiza indicatorilor de supraviețuire generală și fără recidivare la 3 ani la pacientele cu CE din grupul de risc scăzut, la care, în general, acești indicatori sunt mai mari (rata de supraviețuire globală - 97,7%, supraviețuirea fără recidivare - 92,1%) decât la pacientele cu CE din grupul de risc crescut (91,9% și, respectiv, 78%). Deși analiza supraviețuirii la 3 ani a relevat că la această limită, tulburările molecular-genetice apar ca un factor care agravează prognosticul, ca urmare a rezultatelor supraviețuirii generale (79%, $p > 0,05$) și a supraviețuirii fără recidivare (67,1%, $p < 0,05$), în ambele grupuri (89%, respectiv, 82,9%).

Ca rezultat al studiului, s-a constatat că prezența mutației în gena *PTEN* la pacientele cu CE poate juca un rol cheie de la momentul apariției tumorii până la progresia acesteia. În stadiul carcinogenezei la pacientele cu CE, tulburările molecular genetice joacă rolul factorilor care cresc riscul de recidivă.

Prezența mutației supresoare tumorale *PTEN* are ca rezultat potențe mai mari de invazie și metastazare la pacientele de risc scăzut, așa cum evidențiază ratele de supraviețuire globale și fără recidivare la 3 ani mai scăzute

În același timp, un astfel de efect de „oprire” al sindromului metabolic, conform rezultatelor noastre, este limitat la 2 ani, după care are loc o inversare a ratelor de supraviețuire globală și fără recidivare la 3 ani cu depreciere la pacientele cu CE purtătoare de mutații *PTEN* din grupul de risc scăzut.

Acest model este în concordanță cu rezultatele altor cercetători, unde s-a demonstrat că în intervalul de monitorizare de la 5 la 10 ani a pacientelor cu CE – purtătoare ale mutației supresoare tumorale *PTEN* după tratamentul antitumoral, mutațiile genice apar ca factor, care agravează prognosticul, în urma căruia ratele supraviețuirii globale și fără recidivare scad imediat cu creșterea semnificativă frecvenței de recurență [16, 20, 21].

Acesta poate fi rezultatul influenței unui complex de factori care pot avea un efect modificador asupra prognosticului pacientelor cu CE: mediatori inflamatori care induc expresia oncogenelor și, în același timp, controlează expresia oncogenelor, determinând mutația acestora, poate contribui la imunosupresie, slăbirea rezistenței antitumorale, afectarea mai pronunțată a ADN-ului, influența asupra proceselor de angiogeneză și metastază, precum și inducerea unei comorbidități suplimentare asociate cu tulburări ale metabolismului carbohidraților, inclusiv patologii cardiovasculare și renale [50].

Evaluarea efectului prognostic al parametrilor clinici, morfologici, imunohistochimici și molecular-genetici asupra rezultatelor supraviețuirii globale și fără recidivare a arătat că stadiul

bolii, gradul de invazie, dimensiune tumorii primare și prezența mutațiilor sunt factori statistic semnificativi în supraviețuirea globală la trei ani a pacienților cu CE.

În același timp, diferențierea tumorii, INL, Ki-67 au fost factori statistic semnificativi ai supraviețuirii fără recidivare la trei ani la paciențele cu CE.

Conform rezultatelor obținute, rata de supraviețuire la 3 ani a pacienților purtătoare de mutația *PTEN* a fost semnificativ mai mică decât cea a pacienților fără această mutație, iar activitatea proliferativă a adenocarcinomului endometrioid are o relație directă cu nivelul INL și reprezintă factor de prognostic independent al evoluției CE.

Analiza literaturii de specialitate a arătat că, deși majoritatea cercetătorilor au obținut date similare [16, 50, 153], există o serie de studii, care nu au demonstrat influența markerului Ki-67 asupra rezultatelor supraviețuirii globale și fără recidivare la paciențele cu CE [149]. Rezultatele noastre coroborează opinia privind fezabilitatea și relevanța diagnostică a markerului Ki-67 la forma algoritmului de estimare a riscului de recurență a CE [180, 183].

Caracteristicile depistate ale patogenezei și recurenței CE au făcut posibilă studierea unor criterii predictive și prognostice obiective suplimentare. Luând în considerare aceste criterii, a fost elaborat un model matematic pentru precizarea evoluției CE.

Analiza criteriilor informative pentru includerea în modelul matematic pentru prezicerea evoluției bolii la paciențele cu CE indică faptul că modelele matematice care iau în considerare subtipul molecular al tumorii se caracterizează prin prezența în formula a indicatorilor care sunt fie criterii directe sau indicatori care determină dacă tumora aparține unuia sau altui tip molecular de tumoră endometrială (și anume, prezența unei anumite mutații genetice). Prezintă interes, că modelul matematic pentru estimarea riscului de recidivă la paciențele cu CE a inclus indicatori precum stadiul bolii, tipul histologic și gradul de diferențiere a tumorii, care se poate datora faptului că tumorile cu structură non-endometrioidă sunt mult mai frecvente în grupul de risc crescut.

Semnificația vârstei ca indicator de prognostic pentru CE este determinată de mai mulți factori [21]. În studiul nostru, s-a dovedit că acest factor este important pentru paciențele din grupul de risc scăzut. Capacitatea de a prezice evoluția bolii este importantă din punct de vedere clinic, deoarece permite obiectivarea nu numai a momentului de observare dinamică a pacienților cu CE, ținând cont de momentul critic al recidivei, ci și de a dezvolta un volum adecvat de tratament complex pentru aceste paciente. Sensibilitatea modelului a fost de 89%, specificitatea a fost de 92%, ceea ce permite planificarea unui volum adecvat de tratament.

Comportamentul biologic al tumorilor rămâne destul de apocrif chiar și pentru paciențele în stadiu 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 probabilitatea de recidivă.

Astfel, studiul a făcut posibilă studierea unor aspecte patogenetice: rolul *PTEN*, *IMS*, parametrilor sanguini (*INL*), *Ki-67*, de a efectua o analiză comparativă a caracteristicilor clinice, antropometrice, biochimice, morfologice ale pacientelor cu CE, care a făcut posibilă identificarea unor criterii informative obiective de prognostic și predicție și, pe baza acestora, dezvoltarea unor modele matematice pentru prezicerea evoluției bolii la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc în baza caracteristicilor molecular-genetice.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Concluzii

1. Rezultatele studiului complex realizat pe un lot de 269 de paciente cu CE în stadiile I-II au evidențiat predictorii clinico-morfologici ai apariției recidivelor și metastazelor: carcinom cu celule clare, celule scuamoase glandulare, cancer papilar seros, invazia mai mult de 50% în miometru, adâncimea de invazie a tumorii în miometru >1 cm și în stromă $>0,5$ cm, grad moderat și crescut de anaplazie celulară și nucleară a tumorii, prezența invaziei limfovaskulare și prezența focarelor de necroză în tumoră.

2. Nivelul markerului de proliferare celulară, Ki-67, estimat în examenul imunohistochimic la 50 de paciente cu CE în stadiile I-II s-a impus prin valoare predictivă asupra supraviețuirii, astfel, că odată cu creșterea acestuia rata de supraviețuire scade. La pacientele cu nivelul Ki-67 iminent unei activități proliferative de 0-33% cota de supraviețuire a constituit 80,8%, iar la o activitate proliferativă mai mare de 34% cota de supraviețuire s-a depreciat până la 57,9% în perioada de supraveghere de 3 ani.

3. Testarea ADN la 50 paciente cu CE în stadiile I-II a depistat epimutații în gena *MLH1* în 10 (20%) cazuri și urmează să fie utilizată pentru determinarea riscului de recidivare a bolii. Analiza rezultatelor obținute a arătat că la pacientele cu CE prezența epimutației *MLH1* afectează semnificativ supraviețuirea fără recidivă indiferent de stratificarea grupurilor de risc. Timpul mediu până la progresia CE la pacientele cu epimutația *MLH1* a fost de $14,6 \pm 2,54$ (Î 95% [11,1-19,7]) luni.

4. Epimutația c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* a fost detectată la 12 (24%) paciente. Mai frecvent s-au detectat mutațiile *PTEN* în grupul pacientelor cu risc crescut în 8 (66%) cazuri. Observarea dinamică a pacientelor (n=12) purtătoare ale mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* timp de 3 ani, indiferent de grupul de risc a relevat un prognostic nefavorabil al bolii, care s-a manifestat fie prin recurența adenocarcinomului endometrial (n=8), fie prin apariția de metastaze (n=4).

5. Evoluția CE excelează prin creșterea nivelului neutrofile/limfocite dispensabil de stratificarea grupurilor de risc cu afectarea supraviețuirii fără recidivă la 3 ani, care se corelează indirect cu timpul mediu de apariție a progresiei CE. Datele studiului nostru au demonstrat, că la pacientele cu nivelul INL $<2,43$ timpul de declanșare a progresiei CE este de $16,2 \pm 2,75$ (Î 95% [14,5-18,4]) luni, acesta se reduce până la $15,3 \pm 2,21$ (Î 95% [11,1-19,7]) luni la pacientele cu INL (2,43-5,0) și atinge valoarea minimală de $9,1 \pm 3,32$ (Î 95% [6,7-12,7]) luni la pacientele cu INL $>5,0$. Remarcabil, că la pacientele cu mutația c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN* nivelul INL a fost semnificativ mai mare comparativ cu prototipul inherent pacientelor fără această mutație (5,2 versus 3,7; $p < 0,05$).

6. Problema științifică soluționată în teză constă în aceea, că cercetarea bazată pe studii clinico-morfologice și molecular-genetice a decelat mecanisme patogenetice inedite și predictorii ai exacerbării CE, cum ar fi prezența mutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*, hipermetilării promotorului genei *MLH1*, markerului de proliferare Ki-67, creșterea INL, fapt ce a permis elaborarea unui model matematic pentru prezicerea evoluției bolii la pacientele cu CE din diferite grupuri de risc pe perioada de 3 ani.

2. Recomandări practice

Nivel de sistem

1. Rezultatele studiului privind decelarea factorilor clinico-morfologici și molecular-genetici de prognostic în cancerul endometrial sunt fezabile pentru estimarea riscului de recidivă la 3 ani și pot servi drept repere pentru elaborarea algoritmului de tratament personalizat la paciențele cu CE în stadiile I-II.

2. Revizuirea Protocolului Clinic Național: Cancerul Endometrial, de către grupul de lucru al Ministerului Sănătății al Republicii Moldova, constituit din reprezentanți ai IMSP Institutul Oncologic din RM. Este necesar ca Protocolul național să fie elaborat în conformitate cu ghidurile internaționale actuale în problema cancerului endometrial și va servi drept bază pentru elaborarea protocolului instituțional.

Nivel de instituție medicală

3. Managerul IMSP IO este responsabil de revizuirea Protocolului instituțional în cancerul endometrial, cu implementarea criteriilor clinici și molecular-genetici, cum ar fi determinarea epimutației c.389G>A (p.R130Q) a genei *PTEN*, metilării promotorului genei *MLH1*, markerului de proliferare Ki-67 și a indicelui neutrofile/limfocite. Aplicarea acestor criterii poate fi utilizată pe scară largă pentru estimarea riscului de recurență la paciențele cu CE în stadiile I-II.

4. În activitatea clinică a Laboratorului Biologia Cancerului al IMSP Institutul Oncologic elaborarea și implementarea programelor de cercetare molecular-genetică a CE cu stabilirea subtipului molecular al tumorii. Astfel, va fi eficientizată estimarea evoluției cancerului endometrial în stadiile I-II, ceea ce va permite aplicarea acestuia în conformitate cu criteriile elaborate.

Nivel de medici de familie, oncologi, ginecologi, chirurgii și specialiștii din domeniul oncologiei

5. Implementarea în practica de zi cu zi a modelului matematic, care include în sine 14 parametri clinico-morfologici și molecular-genetici, ar fi utilă pentru estimarea evoluției bolii la paciențele cu CE în stadiile I-II din diferite grupuri de risc pentru o perioadă de până la 3 ani.

BIBLIOGRAFIE

1. ABU-RUSTUM, N.R., ZHOU, Q., IASONOS, A., ALEKTIAR, K.M., LEITAO, M.M.. The revised 2009 FIGO staging system for endometrial cancer: should the 1988 FIGO stages IA and IB be altered? In: *Int J Gynecol Cancer*. 2011, vol.21(3). pp. 511-516. PMID: 21436699; PMCID: PMC3870338. Disponibil: doi: 10.1097/IGC.0b013e31820cc305.
2. ÁLVAREZ-GARCIA, V., TAWIL, Y., WISE, H., LESLIE, N. Mechanisms of *PTEN* loss in cancer: It's all about diversity. In: *Semin. Cancer Biology*. 2019, vol.59. pp.66–79. Disponibil: doi: 10.1016/j.semcancer.2019.02.001.
3. APOSTOLOU, G., APOSTOLOU, N., MOULOS, P., CHATZIPANTELOS, P. Endometrial cytopathology. An image analysis approach using the Ki-67 biomarker. In: *Cytopathology*. 2017, vol. 28. pp.385–390. Disponibil: doi: 10.1111/cyt.12435.
4. ASAMI, Y., KOBAYASHI KATO, M., HIRANUMA, K. et al. Utility of molecular subtypes and genetic alterations for evaluating clinical outcomes in 1029 patients with endometrial cancer. In: *Br J Cancer*. 2023. Disponibil: <https://doi.org/10.1038/s41416-023-02203-3>
5. ASANO H, K.C. HATANAKA, R. MATSUOKA, P. DONG, T. MITAMURA, Y. KONNO, et al., L1CAM predicts adverse outcomes in patients with endometrial cancer undergoing full lymphadenectomy and adjuvant chemotherapy. In: *Ann. Surg. Oncol*. 2020, vol. 27 (7) , p. 2159–2168.
6. BANSAL, N., YENDLURI, V., & WENHAM, R. M. The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. In: *Cancer control : journal of the Moffitt Cancer Center*. 2009, vol. 16(1), pp.8–13. Disponibil: <https://doi.org/10.1177/107327480901600102>
7. BAYRAMOGLU, D., SEÇILMIŞ KERIMOĞLU, Ö. et al. Classification of high-grade endometrium carcinomas using molecular and immunohistochemical methods. In: *Ginekol Pol*. 2023, vol. 94(1). pp.3-11. Disponibil: doi: 10.5603/GP.a2021.0177.
8. BERENDS, M., WU, Y., SIJMONS, R. Toward new strategies to select young endometrial cancer patients for mismatch repair gene mutation analysis. In: *J Clin Oncol*. 2003, vol. 21(23), p. 4364-4370.
9. BERNIS, K., HORLINGS, H. M., HENNESSY, B. T., MADIREDO, M., HIJMAN, E. M., BELEN, K., LINN, S. C., GONZALEZ-ANGULO, A. M., STEMKE-HALE, K., HAUPTMANN, M., BEIJERSBERGEN, R. L., MILLS, G. B., VAN DE VIJVER, M. J., & BERNARDS, R. A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major

- determinant of trastuzumab resistance in breast cancer. In: *Cancer cell*. vol. 12(4). pp.395–402. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.08.030>
10. BILBAO, C., RODRIGUEZ, G., RAMIREZ, R. et al. The relationship between microsatellite instability and *PTEN* gene mutations in endometrial cancer. In: *Int J Cancer*. 2006, vol.119(3). pp.563-570. Disponibil: doi: 10.1002/ijc.21862.
 11. BOGANI, G. et al. Radiomics and Molecular Classification in Endometrial Cancer (The ROME Study): A Step Forward to a Simplified Precision Medicine. In: *Healthcare*. Basel. 2022, vol. 10(12). pp. 24-64. Disponibil: <https://doi.org/10.3390/healthcare10122464>
 12. BOSSE, T. et al. Molecular Classification of Grade 3 Endometrioid Endometrial Cancers Identifies Distinct Prognostic Subgroups. *Am. J. Surg. Pathol.* 2018;42:561–568. Disponibil: doi: 10.1097/PAS.0000000000001020.
 13. R.A. BROOKS, G.F. FLEMING, R.R. LASTRA, N.K. LEE, J.W. MORONEY, C.H. SON, et al. Current recommendations and recent progress in endometrial cancer. In: *Cancer J. Clin.* 2019, vol. 69 (4) . pp. 258–279.
 14. BUSCH, E., CROUS-BOU, M., PRESCOTT, J. et al. Adiponectin, leptin, and insulin-pathway receptors as endometrial cancer subtyping markers. In: *Horm Cancer*. 2018, vol.9. pp.33–39. Disponibil: doi: 10.1007/s12672-017-0318-1.
 15. CAO, W.; MA, X.; FISCHER, J.V.; SUN, C.; KONG, B.; ZHANG, Q. Immunotherapy in endometrial cancer: Rationale, practice and perspectives. In: *Biomark. Res.* 2021, vol. 9, pp.49-52.
 16. CBIORTAL FOR CANCER GENOMOCS. DISPONIBIL : <https://www.cbioportal.org/>
 17. COLOMBO, N.; CREUTZBERG, C.; AMANT, F.; BOSSE, T.; GONZÁLEZ-MARTÍN, A.; LEDERMANN, J.; MARTH, C.; NOUT, R.A.; QUERLEU, D.; MIRZA, M.R.; et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: Diagnosis, treatment and follow-up. In: *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2016, Vol.26. pp.2–30.
 18. COLOMBO, N., PRETI, E., LANDONI, F., CARINELLI, S., COLOMBO, A., MARINI, C., SESSA, C., COLOMBO, N. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. In: *Ann. Oncol.* 2013, Vol. 24 (Suppl. S6). pp.33–38.
 19. CONCIN, N., MATIAS-GUIU, X., VERGOTE, I., CIBULA, D., MIRZA, M.R., MARNITZ, S., LEDERMANN, J., BOSSE, T., CHARGARI, C., FAGOTTI, A. et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. In: *Radiother. Oncol.* 2021, vol. 154. pp. 327–353.
 20. CORTEZ, D. Replication-coupled DNA repair. In: *Mol Cell*. 2019, vol.74, pp.866–876.

21. COSGROVE, C.M., TRITCHLER, D.L., COHN, D.E., MUTCH, D.G., RUSH, C.M., LANKES, H.A., et al. AnNRG Oncology/GOG study of molecular classification for risk prediction in endometrioid endometrial cancer. In: *Gynecol. Oncol.* 2018, vol. 148 (1). pp. 174–180.
22. CHU, Y., WANG, Y., PENG, W. et al. STAT3 activation by IL-6 from adipose-derived stem cells promotes endometrial carcinoma proliferation and metastasis. In: *Biochem Biophys Res Commun.* 2018, 500:626–31. Disponibil: doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.121.
23. D'ALESSANDRIS, N., TRAVAGLINO, A., SANTORO, A. et al. TCGA molecular subgroups of endometrial carcinoma in ovarian endometrioid carcinoma: A quantitative systematic review. *Gynecol Oncol.* 2021 Nov;163(2):427-432. Disponibil: doi: 10.1016/j.ygyno.2021.08.011. Epub 2021 Aug 24. PMID: 34446267.
24. DAIX, M., ANGELES, M., MIGLIORELLI, F., KAKKOS, A., MARTINEZ GOMEZ, C., DELBECQUE, K., MERY, E., TOCK, S., GABIACHE, E., DECUYPERE, M., GOFFIN, F., MARTINEZ, A., FERRON, G., KRIDELKA, F. Concordance between preoperative ESMO-ESGO-ESTRO risk classification and final histology in early-stage endometrial cancer. In: *J Gynecol Oncol.* 2021, vol.32(4). pp 48-59. Disponibil: doi: 10.3802/jgo.2021.32.e48.
25. DAS, A., SUDHAMAN, S., MORGENSTERN, D., COBLENTZ, A., CHUNG, J., STONE, S.C., et al. Genomic predictors of response to PD-1 inhibition in children with germline DNA replication repair deficiency. In: *Nat Med.* 2022, vol.28. pp.125–135.
26. DE BOER, S.M., POWELL, M.E., MILESHKIN, L., KATSAROS, D., BESSETTE, P., HAIE-MEDER, C., et al. Adjuvant chemoradiotherapy versus radiotherapy alone in women with high-risk endometrial cancer (PORTEC-3): patterns of recurrence and post-hoc survival analysis of a randomised phase 3 trial. In: *Lancet Oncol.* 2019, vol. 20 (9). pp. 1273–1285.
27. DIAZ-PADILLA, I., ROMERO, N., AMIR, E., MATIAS-GUIU, X., VILAR, E., MUGGIA, F., & GARCIA-DONAS, J. Mismatch repair status and clinical outcome in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. In: *Critical reviews in oncology/hematology.* 2019, vol. 88(1). pp. 154–167. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.03.002>.
28. 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. pp.69–76. Disponibil: doi: 10.1016/j.metabol.2019.01.007.

29. DI DONATO V., IACOBELLI V., M.C. SCHIAVI, V. COLAGIOVANNI, I. PECORELLA, I. PALAIA, et al., Impact of hormone receptor status and Ki-67 expression on disease-free survival in patients affected by high-risk endometrial cancer. In: *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2018, vol. 28 (3). pp. 505–513.
30. EMONS, G., VORDERMARK, D. Adjuvant treatment for endometrial cancer. In: *Curr Opin Oncol*. 2019, vol. 31(5). pp.404–410. Disponibil: doi: 10.1097/CCO.0000000000000558
31. ENGURUD, H., BERG, HF., MYRVOLD, M. High degree of heterogeneity of PD-L1 and PD-1 from primary to metastatic endometrial cancer. In: *Gynecologic Oncology*. 2020, vol. 157(1). pp.260-267. Disponibil: doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.01.020>.
32. ERICKSON, BK., ZEYBEK, B., SANTIN, AD., FADER, AN. Targeting human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in gynecologic malignancies. In: *Curr. Opin. Obstet. Gynecol*. 2020, vol, 32. pp.57–64. Disponibil: doi: 10.1097/GCO.0000000000000599.
33. FAIS, M., CORVETTO, E., RUSSO, M. et al. Preliminary results of immunohistochemical tumor markers evaluation in endometrial cancer patients. In: *International Journal of Gynecologic Cancer* . 2019, vol. 29. pp. 354-365.
34. FORTNER, RT, HUSING, A, KUHN, T et al. Endometrial cancer risk prediction including serum-based biomarkers: results from the EPIC cohort. In: *Int J Cancer*. 2017, vol. 140. pp.1317–1323. Disponibil: doi: 10.1002/ijc.30560.
35. GALLOS, ID, OFINRAN, O, SHEHMAR, M, COOMARASAMY, A, GUPTA, JK. Current management of endometrial hyperplasia - a survey of United Kingdom consultant gynaecologists. In: *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2011, vol.158(2). pp.305-307.
36. GATIUS, S., MATIAS- GUIU, X.. Practical issues in the diagnosis of serous carcinoma of the endometrium. In: *Mod. Pathol*. 2019, vol. 29 (Suppl. 1). pp. 45-58
37. GEELS, L.J.M., VAN DER PUTTEN, A.A.G., VAN TILBORG, B.E.C., NIENHAUS, S.H., VAN DEN BERG-VAN, E.R.P., SNIJDERS, M., et al., Immunohistochemical profiles of endometrioid endometrial carcinomas with and without metastatic disease. In: *AIMM*. 2018, vol. 26 (3). pp. 173–179.
38. GENSCHEL, J. et al. Isolation of MutSbeta from human cells and comparison of the mismatch repair specificities of MutSbeta and MutSalpha. In: *J Biol Chem*. 1998, vol. 273, nr. 41, p.2703-2704.
39. GIMM, O. et al. Expression of the *PTEN* tumour suppressor protein during human development. In: *Hum Mol Genet*. 2000, vol. 9, pp. 1633-1639.

40. GIUNTI, L. et al. Clonality analysis of pediatric multiple tumors: two case reports and laboratory investigation. In: *J Pedi-atr Hematol Oncol*, 2006, vol. 28, nr. 4, pp. 241-248.
41. GÓMEZ-RAPOSO, C., SALVADOR, MM., ZAMORA, C.A., et al. Immune checkpoint inhibitors in endometrial cancer. In: *Crit. Rev. Oncol.* 2021, vol. 103. pp.306-318. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2021.103306>.
42. GROVER, S., SYNGAL, S. Genetic testing in gastroenterology: Lynch syndrome. In: *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2009, vol. 23, nr. 2, pp. 185-196.
43. GRUBER S.B., THOMPSON W.D. A population-based study of endometrial cancer and familial risk in younger women. Cancer and Steroid Hormone Study Group. In: *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2006, vol. 5, nr. 6, p. 411-417.
44. J. GUAN, L. XIE, X. LUO, B. YANG, H. ZHANG, Q. ZHU, et al., The prognostic significance of estrogen and progesterone receptors in grade I and II endometrioid endometrial adenocarcinoma: hormone receptors in risk stratification. In: *J. Gynecol. Oncol.* 2019, vol. 30 (1). pp. 13-17.
45. GULSEREN, V., KOCAER, M., OZDEMIR, I.A., CAKIR, I., SANCI, M., GUNGORDUK, K. Do estrogen, progesterone, P53 and Ki67 receptor ratios determined from curettage materials in endometrioid-type endometrial carcinoma predict lymph node metastasis? In: *Curr Probl Cancer.* 2020, vol. 44(1). pp.100-498. Disponibil : doi:10.1016/j.currproblcancer.2019.07.003
46. HALDORSEN, T., et al. Diagnostic accuracy of clinical biomarkers for preoperative prediction of lymph node metastasis in endometrial carcinoma: a systematic review and meta-analysis. In : *Oncologist* . 2019, vol. 24 (9), pp.880-890.
47. HAN, Y., LIU, D., LI, L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(3): 727-742. Hartman et al. Incidence and Prognosis of Synchronous and Metachronous Bilateral Breast Cancer. In: *J Clin Oncol.* 2007, vol. 25, p. 4210-4216.
48. HASHEMI, J. et al. CDKN2 Germline Mutations in Individuals with Multiple Cutaneous Melanoma. In: *Cancer Res.* 2000, vol. 60, nr. 24, p. 6864-6867.
49. HONG, R., LIU, W., DELAIR, D, RAZAVIAN, N, FENYÖ, D. Predicting endometrial cancer subtypes and molecular features from histopathology images using multi-resolution deep learning models. In: *Cell Rep Med.* 2021, vol 2(9). P.1100-1112. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100400.
50. HOWE, H.L. et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2003, featuring cancer among U.S. Hispanic Latino populations. In: *Cancer*, 2006, vol. 107, nr. 8, p. 1711-1742.

51. HU, S., HINSON, J.L., MATNANI, R., CIBULL, M.L., KARABAKHTSIAN, R.G. Are the uterine serous carcinomas underdiagnosed? Histomorphologic and immunohistochemical correlates and clinical follow up in high-grade endometrial carcinomas initially diagnosed as high-grade endometrioid carcinoma. In: *Mod. Pathol.* 2019, vol. 31 (2). pp. 358-364
52. HUANG, S.C. et al. Duplication of the mutant RET allele in trisomy 10 or loss of the wild-type allele in multiple endocrine neoplasia type 2-associated pheochromocytoma. In: *Cancer Res*, 2020, vol. 60, pp. 6223–6226.
53. HUMPHREY, L.L., HELFAND, M., CHAN, B.K.S. Breast cancer screening: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. In: *Ann Intern Med.* 2002, vol. 137, pp. 347-360.
54. HUO, X., SUN, H., CAO, D., et al. Identification of prognosis markers for endometrial cancer by integrated analysis of DNA methylation and RNA-Seq data. In: *Sci Rep.* 2019, vol. 9. pp. 9924-9934, Disponibil: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46195-8>.
55. HUTT, S., TAILOR, A., ELLIS P., et al. The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: A literature review. In: *Acta Oncol.* 2019, vol. 58. pp.342–352. Disponibil: doi: 10.1080/0284186X.2018.1540886.
56. HUVILA, J, PORS, J, THOMPSON, EF, GILKS, CB. Endometrial carcinoma: Molecular subtypes, precursors and the role of pathology in early diagnosis. In: *J. Pathol.* 2021, vol. 253. pp. 355–365. Disponibil: doi: <https://doi.org/10.1002/path.5608>.
57. HUSSEIN, Y., WEIGELT, B., LEVINE, D. et al. Clinicopathological analysis of endometrial carcinomas harboring somatic *POLE* exonuclease domain mutations. In: *Mod Pathol.* 2015, vol. 28. pp.505–514. Disponibil: doi: <https://doi.org/10.1038/modpathol.2014.143>
58. JAMIESON, A., THOMPSON, E.F., HUVILA, J., et al. p53abn Endometrial Cancer: Understanding the most aggressive endometrial cancers in the era of molecular classification. In: *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2021, vol. 31. pp. 907–913. Disponibil: doi: 10.1136/ijgc-2020-002256.
59. JIANG, P., JIA, M., HU, J., HUANG, Z., DENG, Y., LAI, L., DING, S., HU, Z. Prognostic Value of Ki67 in Patients with Stage 1–2 Endometrial Cancer: Validation of the Cut-off Value of Ki67 as a Predictive Factor. In: *Onco Targets Ther.* 2020, vol. 13. pp. 10841-10850. Disponibil: doi: <https://doi.org/10.2147/OTT.S274420>
60. JO, W.S., CHUNG, D.C. Genetics of hereditary colorectal cancer. In: *Semin Oncol.* 2005, vol. 32, nr. 1. pp. 11-23.

61. KANG, S., KANG, W.D., CHUNG, H.H., JEONG, D.H., SEO, S.S., LEE, J.M., LEE, J.K., KIM, J.W., KIM, S.M., PARK, S.Y., KIM, K.T. Preoperative identification of a low-risk group for lymph node metastasis in endometrial cancer: a Korean gynecologic oncology group study. In: *J Clin Oncol*. 2012, vol. 30(12). pp.1329-34. Disponibil: doi: 10.1200/JCO.2011.38.2416.
62. KARNEZIS, A., LEUNG S., MAGRILL J., MCCONECHY M.K., YANG W., CHOW C., et al., Evaluation of endometrial carcinoma prognostic immunohistochemistry markers in the context of molecular classification. In: *J. Pathol. Clin. Res*. 2017, vol. 3(4). pp. 279–293.
63. KAZEROUNI, N., et al. Family history of breast cancer as a risk factor for ovarian cancer in a prospective study. In: *Cancer*. 2006, vol. 107, nr. 5. pp. 1075-1083.
64. KEYS, H.M., ROBERTS, J.A., BRUNETTO, V.L., ZAINO, R.J., SPIRTOS, N.M., BLOSS, J.D., et al. A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. In: *Gynecol. Oncol*. 2004, vol. 92 (3). pp. 744-751.
65. KITSON, S.J, LINDSAY, J., SIVALINGAM, V.N., RUTTER, M.K., CROSBIE, E.J. High prevalence of metabolic syndrome in women newly diagnosed with endometrial cancer. In: *Gynecol Oncol Rep*. 2018, vol. 26. pp. 109–10. Disponibil: doi: 10.1016/j.gore.2018.08.006.
66. KOBEL, M.R.B., SINGH, N., SOSLOW, R.A., GILKS, C.B., MCCLUGGAGE, W.G. Interpretation of P53 immunohistochemistry in endometrial carcinomas: toward increased reproducibility. In: *Int J Gynecol Pathol*. 2019, vol. 38(Suppl 1). pp. S123–S31. Disponibil: doi: 10.1097/PGP.0000000000000488
67. KOMMOSS, F.K., KARNEZIS, A.N., KOMMOSS, F., TALHOUK, A., TARAN, F.A., STAEBLER, A., et al. L1CAM further stratifies endometrial carcinoma patients with no specific molecular risk profile. In: *Br. J. Cancer*. 2018, vol.119 (4). pp. 480–486.
68. KUMARI, N. ET AL. Identifying the oncogenic role of USP10 as the regulator of *PTEN* function in breast cancer. In: *Annals of Oncology*. 2020, vol. 29, pp.10 – 13.
69. KUHN, E., WU, R. C., GUAN, B., WU, G., ZHANG, J., WANG, Y., SONG, L., YUAN, X., WEI, L., RODEN, R. B., KUO, K. T., NAKAYAMA, K., CLARKE, B., SHAW, P., OLVERA, N., KURMAN, R. J., LEVINE, D. A., WANG, T. L., & SHIH, I.E.M. Identification of molecular pathway aberrations in uterine serous carcinoma by genome-wide analyses. In: *Journal of the National Cancer Institute*. 2012, vol. 104(19). pp.1503–1513. Disponibil: <https://doi.org/10.1093/jnci/djs345>

70. LACEY, J.V., et al. *PTEN* expression in endometrial biopsies as a marker of progression to endometrial carcinoma. In: *Cancer Res.* 2008, vol. 68(14). pp. 6014-6020. Disponibil: doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1154
71. LAX, F. Pathology of endometrial carcinoma. In: *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017, vol. 943. pp. 75-96
72. LEACHMAN, S.A., CARUCCI, J., KOHLMANN, W., KOHLMANN, W., BANKS, K., ASGARI, M. BERGMAN, W., et al. Selection criteria for genetic assessment of patients with familial melanoma. In: *J Am Acad Dermatol.* 2009 Oct, vol.61(4).pp.677-675. Disponibil: doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.03.016> PMID:19751883 PMCID:PMC3307795
73. LEE J.S., JOHN E.M., MCGUIRE V. Breast and ovarian cancer in relatives of cancer patients, with and without BRCA mutations. In: *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006, vol. 15, nr. 2, pp. 359-363.
74. LEE, S. et al. Aberant CpG island hypermethylation along multistep hepatocarcinogenesis. In: *Am. J. Phathol.* 2003, vol. 163, pp. 1371-1378.
75. LEE, S.Y. Tailored Therapy Based on Molecular Characteristics in Endometrial Cancer. In: *BioMed Res. Int.* 2021, 2068023. Disponibil: <https://doi.org/10.1155/2021/2068023>.
76. LESLIE, K.K., FILIACI, V.L., MALLEEN, A.R., THIEL, K.W., DEVOR, E.J., MOXLEY, K., ET AL., Mutated *p53* portends improvement in outcomes when bevacizumab is combined with chemotherapy in advanced/recurrent endometrial cancer: an NRG Oncology study, In: *Gynecol. Oncol.* 2021, vol.161(1). pp.113–121.
77. LEÓN-CASTILLO, T., GILVAZQUEZ, E., NOUT, R., SMIT, V.T., MCALPINE, J.N., MCCONECHY, M., ET AL., Clinicopathological and molecular characterisation of ‘multiple-classifier’ endometrial carcinomas, *J. Pathol.* 2020, vol.250(3) pp.312–322.
78. LIANG, X., DAIKOKU, T., TERAOKAWA, J., et al. The uterine epithelial loss of *PTEN* is inefficient to induce endometrial cancer with intact stromal *PTEN*. In: *PLoS Genet.* 2018, vol.14(8): e1007630. Disponibil: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007630>.
79. LI, L., LIU, F., ROSS, A.H. *PTEN* regulation of neural development and CNS stem cells. In: *J Cell Biochem.* 2003, vol. 88, pp. 24-28.
80. LONG, B.J., CLARKE, M.A., DEL MAR MORILLO, A., et al. Association of endometrial cancer risk with postmenopausal bleeding in women a systematic review and meta-analysis. In: *JAMA Intern. Med.* 2018; vol.178. pp.1201–1208. Disponibil: doi: 10.1001/jamainternmed.2018.2820.

81. LU, K.H., BROADDUS, R.R. Endometrial Cancer. In: *New Engl. J. Med.* 2020, vol.383. pp. 2053–2064. Disponibil: doi: 10.1056/NEJMra1514010.
82. LUO, D.C. et al. Clinicopathological and molecular genetic analysis of HNPCC in China. In: *World J Gastroenterology*. 2005, vol. 11, nr. 11, pp. 1673-1679.
83. MARALI, R., DELAIR, D.F., BEAN, S.M., et al. Evolving roles of histologic evaluation and molecular/genomic profiling in the management of endometrial cancer. In: *JNCCN J. Natl. Compr. Cancer Netw.* 2018, vol.16, pp.201–209. Disponibil: doi: 10.6004/jnccn.2017.7066.
84. MEELLEMKJAER, L., et al. Risk of cancer among women with breast cancer. In: *Int. J Cancer*. 2006, vol. 118, nr. 9. pp. 2285-2292.
85. MEREUȚA, I., TRIPAC, I., ș.a. Algoritmul screeningului persoanelor de risc sporit de cancer a organelor reproductive la femei. Brevet de invenție Nr 4859 din 05.05.2010. USMF „N. Tetseanu”.
86. MIRILI, C., BILICI, M. Inflammatory prognostic markers in endometrial carcinoma: systemic immune-inflammation index and prognostic nutritional index. In: *MSD (Medical Science and Discovery)*. 2020, vol.7(1). pp.351-359. Disponibil: <https://doi.org/10.36472/msd.v7i1.339>.
87. MITAMURA, T., DONG, P., IHIRA, K., et al. Molecular-targeted therapies and precision medicine for endometrial cancer. In: *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2019, vol.49, pp.108–120. Disponibil: doi: 10.1093/jjco/hyy159.
88. MITRIC, C., BERNARDINI, M.Q. Endometrial Cancer: Transitioning from Histology to Genomics. In: *Curr Oncol.* 2022, vol.29(2). pp.741-757. Disponibil: doi: 10.3390/curroncol29020063.
89. MCALPINE, J., LEON-CASTILLO, A., & BOSSE, T. The rise of a novel classification system for endometrial carcinoma; integration of molecular subclasses. In: *The Journal of pathology*. 2018, vol.244(5), pp. 538–549. Disponibil: <https://doi.org/10.1002/path.5034>
90. MOREIRA, I., BARTOSCH, C., TEIXEIRA, M., FERREIRA, M. Molecular Classification of Endometrial Carcinoma: Protocol for a Cohort Study. In: *JMIR Res Protoc*. 2022 Aug 4, vol.11(8):e34461. Disponibil: doi: 10.2196/34461.
91. MORICE, P., LEARY, A., CREUTZBERG, C., ABU-RUSTUM, N., DARAI, E. Endometrial cancer. In: *Lancet*. 2016, vol.387. pp. 1094–1108.
92. MURALI, R., DELAIR, D.F., BEAN, S.M., ABU-RUSTUM, N.R., SOSLOW, R.A. Evolving Roles of Histologic Evaluation and Molecular/Genomic Profiling in the

- Management of Endometrial Cancer. In: *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* 2018, vol.16. pp.201–209. Disponibil: doi: 10.6004/jnccn.2017.7066.
93. NAGLE, C.M., CROSBIE, E.J., BRAND, A., et al. The association between diabetes, comorbidities, body mass index and all-cause and cause-specific mortality among women with endometrial cancer. In: *Gynecol Oncol.* 2018, vol. 150. pp.99–105. Disponibil: doi: 10.1016/j.ygyno.2018.04.006.
 94. NAROD, S.A., BOYD, J. Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA1 and BRCA2 mutations for ovarian cancer. In: *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2002, vol. 14, pp. 19–26.
 95. NEVADUNSKY, N.S, VAN ARSDALE, A., STRICKLER, H.D., et al. Obesity and age at diagnosis of endometrial cancer. In: *Obstet Gynecol.* 2014, vol.124. pp.300- 306.
 96. NIKIFOROV, Y.E. et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. In: *J Clin Endocrinol Metab.* 2009, vol. 94, nr. 6, pp. 2092-2098.
 97. OCTEAU, D., ABITBOL, J., AMAJOUD, Z., LASKOV, I., FERENCZY, A., PELMUS, M., et al. Targeted sequencing of histologically defined serous endometrial cancer reflects prognosis and correlates with preoperative biopsy. In: *Gynecol Oncol Rep.* 2019 vol. 30 . e100521.
 98. ONAL, C., SARI, S.Y., YILDIRIM, B.A., YAVAS, G., GULTEKIN, M., GULER, O.C., et al., A multiinstitutional analysis of sequential versus ‘sandwich’ adjuvant chemotherapy and radiotherapy for stage IIIC endometrial carcinoma, In: *J. Gynecol. Oncol.* 30 2019 vol. 3 , pp. 28-35.
 99. OULDAMER, L., BENDIFALLAH, S., BODY, G., et al. Predicting poor prognosis recurrence in women with endometrial cancer: a nomogram developed by the FRANCOGYN study group. *Br J Cancer.* 2016, vol. 115(11). pp.1296–1303. doi:10.1038/bjc.2016.337
 100. OULDAMER, L., BENDIFALLAH, S., BODY, G., et al. Change in hazard rates of recurrence over time following diagnosis of endometrial cancer: an age stratified multicentre study from the FRANCOGYN group. *Eur J Surg Oncol.* 2018, vol.(12). pp.1914–1920. Disponibil: doi:10.1016/j.ejso.2018.07.053
 101. PAL, T. et al. Increased risk for nonmedullary thyroid cancer in the first degree relatives of prevalent cases of nonmedullary thyroid cancer: a hospital-based study. In: *J Clin Endocrinol.* 2001, vol. 86, nr. 11, pp. 5307–5312.

102. PARKASH, V., FADARE, O., TORNOS, C., MCCLUGGAGE, W.G. Committee Opinion No. 631: Endometrial Intraepithelial Neoplasia. *Obstet Gynecol.* 2015 Oct;126(4):897.
103. A. PASANEN, T. TUOMI, J. ISOLA, STAFF S, R. BÜTZOW, M. LOUKOVAARA PDL1 cell adhesion molecule as a predictor of disease-specific survival and patterns of relapse in endometrial cancer *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2016, vol. 8. pp. 1465-1471
104. PASSARELLO, K., KURIAN, P., VILLANUEVA, V. Endometrial Cancer: An Overview of Pathophysiology, Management, and Care. In: *Seminars in Oncology Nursing.* 2019, vol. 35(2). pp.157-165, Disponibil: doi: <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2019.02.002>.
105. PITOT, H.C. Animal models of neoplastic development. In: *Dev Biol.* 2001, vol. 106, pp. 53-57.
106. PIULATS, J.M., GUERRA, E., GIL-MARTÍN, M., ROMAN-CANAL, B., GATIUS, S., SANZ-PAMPLONA, R., VELASCO, A., VIDAL, A., MATIAS-GUIU, X. Molecular approaches for classifying endometrial carcinoma. In: *Gynecol. Oncol.* 2017, nr.145, pp.200–207.
107. POLLOCK, P.M. et al. Loss of the *PTEN* gene is important for the propagation of melanoma cells in culture, but is infrequent in melanoma tumours. In: *Melanoma Res.* 2002, vol. 12, pp. 565-575.
108. POLUSANI, S.R., HUANG, Y.W., HUANG, G., et al. Adipokines deregulate cellular communication via epigenetic repression of gap junction loci in obese endometrial cancer. In: *Cancer Res.* 2019, vol. 79, pp.196–208. Disponibil: doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-1615.
109. PRENDERGAST, E.N., HOLMAN L.L., LIU A.Y., LAI T.S., CAMPOS M.P., FAHEY J.N., et al., Comprehensive genomic profiling of recurrent endometrial cancer: implications for selection of systemic therapy. In: *Gynecol. Oncol.* 2019 vol. 154(3), pp. 461–466.
110. Protocol clinic național Cancer endometrial. Disponibil: <https://msmps.gov.md/wp-content/uploads/2021/01/PCN-139-Cancer-endometrial.pdf>
111. QUARANTA, V., WEAVER, A. M., CUMMINGS, P. T., & ANDERSON, A. R. Mathematical modeling of cancer: the future of prognosis and treatment. In: *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2005, vol.357(2), pp. 173–179. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.03.023>

112. RAFFONE, A., TRAVAGLINO, A., MASCOLO, M., et al. TCGA molecular groups of endometrial cancer: Pooled data about prognosis. In: *Gynecol Oncol*, 2019, vol. 155, pp.374-389. Disponibil: doi:10.1016/j.ygyno.2019.08.019.
113. RAY, S., JHA, A, AFREEN ISLAM, A., SENGUPTA, M. Study of prognostic and diagnostic significance of P53 and *PTEN* mutation in proliferative lesions of endometrium. In: *Journal of Current Medical Research and Opinion*. 2020, vol. 3(08), pp.563-569. Disponibil: doi:https://doi.org/10.15520/jcmro.v3i08.321.
114. REGITNIG, P. et al. Bilateral carcinomas of the breast with local recurrence; analysis of genetic relationship of the tumors. In: *Mod Pathol*. 2004, vol. 17, pp. 597–602.
115. REIJNEN, E., GOGOU, N.C.M., VISSER, H., ENGERUD, J., RAMJITH, L.J.M., VAN DER PUTTEN, et al. Preoperative risk stratification in endometrial cancer (ENDORISK) by a Bayesian network model: a development and validation study. *PLoS Med*. 2020, Vol. 17 (5).
116. REIFENBERGER, J. et al. Allelic losses on chromosome arm 10q and mutation of the *PTEN*(*MMAC1*) tumor suppressor gene in primary and metastatic malignant melanomas. In: *Virchov Arch*. 2000, vol. 436, pp. 487-493.
117. RESKE, J.J., WILSON, M.R., HOLLADAY, J., SIWICKI, R.A., SKALSKI, H., HARKINS, S., et al. Co-existing *TP53* and *ARID1A* mutations promote aggressive endometrial tumorigenesis. *PLoS Genet*. 2021, vol.17, e1009986.
118. RICCARDI, V.M. The genetic predisposition to and histogenesis of neurofibromas and neurofibrosarcoma in neurofibromatosis type 1. In: *Neurosurg. Focus*. 2007, vol. 22, nr. 6, e3.
119. RICHETTA, A. et al. Instability at sequence repeats in melanocytic tumours. In: *Melanoma Res*. 2001, vol. 11, pp. 283–289.
120. RISCH, H.A. et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada. In: *J Nat Cancer Inst*. 2006, vol. 98, nr. 23, pp. 1675-1677.
121. RIZZO, A. Immune Checkpoint Inhibitors and Mismatch Repair Status in Advanced Endometrial Cancer: Elective Affinities. In: *J. Clin. Med*. 2022, nr.11, pp. 3912-3927. <https://doi.org/10.3390/jcm11133912>
122. ROBERTS, T., CHERNOVA, O., COWELL, J.K. Molecular characterization of the 1p22 break-point region spanning the constitutional translocation breakpoint in a neuroblastoma patient with a t(1;10)(p22;q21). In: *Cancer Genet Cytogenet*. 1998, vol. 100, pp. 10-20.

123. ROBERTSON, G.P. et al. In vitro loss of heterozygosity targets the *PTEN* MMAC1 gene in melanoma. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1998, vol. 95, pp. 9418-9423.
124. RUBIA, E., MARTINEZ-GARCIA, E., DITTMAR, G., et al. Prognostic Biomarkers in Endometrial Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. In: *J Clin Med.* 2020, vol. 9(6):1900. Disponibil: doi: 10.3390/jcm9061900.
125. RUBINO C. et al. Second primary malignancies in thyroid cancer patients. In: *Br J Cancer.* 2003, vol. 89, pp. 1638–1644.
126. RÜBBEN, A. et al. Loss of heterozygosity and microsatellite instability in acquired melanocytic nevi: towards a molecular definition of the dysplastic nevus. In: *Recent Results Cancer Res.* 2002, vol. 160, pp. 100–110.
127. RYDZANICZ, M. et al. The impact of genetic factors on the incidence of multiple primary tumors (MPT) of the head and neck. In: *Cancer Lett.* 2005, vol. 224, nr. 2, pp. 263-278.
128. SAMUELS, Y. et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. In: *Science.* 2004, vol. 304, pp. 554-558.
129. SARANTAUS, L. et al. BRCA1 and BRCA2 mutations among 233 unselected Finnish ovarian carcinoma patients. In: *Eur J Hum Genet.* 2001, vol. 9, pp. 424–430.
130. SASANO, T., MABUCHI, S., KOZASA, K., KURODA, H., KAWANO, M., TAKAHASHI, R., et al., The highly metastatic nature of uterine cervical/endometrial cancer displaying tumor-related leukocytosis: clinical and preclinical investigations. In: *Clin. Cancer Res.* 2018, vol. 24 (16), pp. 4018–4029.
131. SAUERBREI, W., TAUBE, S.E., MCSHANE, L.M., et al. Reporting Recommendations for Tumor Marker Prognostic Studies (REMARK): An abridged explanation and elaboration. In: *J. Natl. Cancer Inst.* 2018, nr.110, pp.803–811. Disponibil: doi:10.1093/jnci/djy088.
132. SCHEUER, L. et al. Outcome of preventive surgery and screening for breast and ovarian cancer in BRCA mutation carriers. In: *J Clin Oncol.* 2002, vol. 20, nr. 5, pp. 1260-1268.
133. SHERMAN, M.E. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. In: *Mod Pathol.* 2000 Mar, vol.13(3), pp.295-308.
134. SIEGEL, R.L., MILLER, K.D., JEMAL, A. Cancer statistics, 2020. In: *CA Cancer J. Clin.* 2020, nr. 70, pp. 7–30. Disponibil: doi:10.3322/caac.21590.
135. SIDERIS, M., EMIN, E.I., ABDULLAH, Z., HANRAHAN, J., STEFATOU, K.M., SEVAS, V., et al. The role of *KRAS* in endometrial cancer: a mini-review. In: *Anticancer Res.* 2019, nr.39, pp.533–539.
136. SINGH, N., PISKORZ, A.M., BOSSE, T., JIMENEZ-LINAN, M., et al. p53

- immunohistochemistry is an accurate surrogate for *TP53* mutational analysis in endometrial carcinoma biopsies. In: *J Pathol*. 2020, vol. 250(3), pp.336-345. Disponibil: doi: 10.1002/path.5375.
137. SKINNER, M.A. et al. Prophylactic Thyroidectomy in Multiple Endocrine Neoplasia Type 2A. In: *N Engl J of Med*. 2005, vol. 353, nr. 11, p. 1105-1113.
 138. SMITH, D., STEWART, C.J.R., CLARKE, E.M., et al. ER and PR expression and survival after endometrial cancer. In: *Gynecol Oncol*. 2018, vol.148(2), pp.258–266. Disponibil: doi:10.1016/j.ygyno.2017.11.027
 139. 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, pp.86-89.
 140. SOFRONI D., **TRIPAC, I.** Caracteristica morfopatologică a tumorilor la pacientele de risc sporit de cancer ereditar al organelor hormonodependente. In: *Culegere de articole și teze. Congresul III Național de Oncologie. Chișinău*. 2013. pp. 247-256
 141. SOUMERAI, T.E., DONOGHUE, M.T.A., BANDLAMUDI, C., SRINIVASAN, P., CHANG, M.T., ZAMARIN, D., et al., Clinical utility of prospective molecular characterization in advanced endometrial cancer. In: *Clin. Cancer Res*. 2018, nr. 24 (23) pp.5939–5947.
 142. STÅLBERG, K., BJURBERG, M., BORGFELDT, C., et al. Lymphovascular space invasion as a predictive factor for lymph node metastases and survival in endometrioid endometrial cancer - a Swedish Gynecologic Cancer Group (SweGCG) study. *Acta Oncol*. 2019, nr. 58, pp. 1628- 1633.
 143. STAVROPOULOS, A., VARRAS, M., VASILAKAKI, T., VARRA, V., TSAVARI, A., VARRA, F. ... LAZARIS, A.C. Expression of *p53* and *PTEN* in human primary endometrial carcinomas: Clinicopathological and immunohistochemical analysis and study of their concomitant expression. In: *Oncology Letters*. 2017, nr. 17, pp.4575-4589. Disponibil: <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10093>
 144. STELLOO, E., NOUT, R.A., OSSE, E.M., JÜRGENLIEMK-SCHULZ, I.J., JOBSEN, J.J., LUTGENS, L.C., et al. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer-combined analysis of the PORTEC cohorts. In: *Clin.Cancer Res*. 2016, vol. 22 (16), pp. 4215–4224.
 145. SUCHY, J. et al. Frequency and Nature of *MSH6* Germline Mutation in Polish Patients with Colorectal, Endometrial and Ovarian Cancers. In: *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. 2006, vol. 4, nr. 1, pp. 60-65.

146. SYRIGOS, K.N. et al. Colonoscopy in asymptomatic individuals with a family history of colorectal cancer. In: *Annals Surgical Oncology*. 2002, vol. 9, nr. 5, pp. 439-443.
147. TAI ,Y.C. et al. Breast cancer risk among male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. In: *J Natl Cancer Ins.*, 2007, vol. 99, pp. 1811–1814.
148. TALHOUK, A., MCCONECHY, M.K., LEUNG, S., YANG, W., LUM, A., SENZ, J., BOYD, N., PIKE, J., ANGLESIO, M., KWON, J.S., et al. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. In: *Cancer*. 2017, nr. 123, pp.802–813. Disponibil: doi:10.1002/cncr.30496.
149. TALLINI, G. Asa SLRET oncogene activation in papillary thyroid carcinoma. In: *Adv Anat Pathol*. 2001, vol. 8, nr. 6, pp. 345-354.
150. TAKAHASHI, K., YUNOKAWA, M., SASADA, S., et al. A novel prediction score for predicting the baseline risk of recurrence of stage I–II endometrial carcinoma. In: *J Gynecol Oncol*. 2019, vol. 30(1):e8. Disponibil: doi:10.3802/jgo.2019.30.e8
151. TERAOKAWA, N., KANAMORI, Y. AND YOSHIDA, S. Loss of *PTEN* Expression Followed by Akt Phosphorylation Is a Poor Prognostic Factor for Patients with Endometrial Cancer. In: *Endocrine-Related Cancer*. 2003, nr.10, pp.203-208. <https://doi.org/10.1677/erc.0.0100203>
152. THOMAS, S., HUSSEIN, Y., BANDYOPADHYAY, S., COTE, M., HASSAN, O., ABDULFATAH, E., et al. Interobserver variability in the diagnosis of uterine high-grade endometrioid carcinoma. In: *Arch Pathol Lab Med*. 2016, vol.140 (8), pp. 836-843.
153. TERAOKAWA, N., KANAMORI, Y., YOSHIDA, S. Loss of *PTEN* expression followed by Akt phosphorylation is a poor prognostic factor for patients with endometrial cancer. In: *End Relat Cancer*. 2003, vol.10(2), pp. 203-208. Disponibil: doi:10.1677/erc.0.0100203.
154. TIMMERMAN, S., VAN ROMPUY, A.S., VAN GORP, T., VANDEN BEMPT, I., BREMS, H., VAN NIEUWENHUYSEN, E., HAN, S.N., NEVEN, P., VICTOOR, J., LAENEN, A., VERGOTE, I. Analysis of 108 patients with endometrial carcinoma using the PROMISE classification and additional genetic analyses for MMR-D. In: *Gynecol Oncol*. 2020 Apr, vol.157(1), pp.245-251. Disponibil: doi:10.1016/j.ygyno.2020.01.019.
155. TRAVAGLINO, A., RAFFONE, A., STRADELLA, C., ESPOSITO, R., MORETTA, P., GALLO, C., ORLANDI, G., INSABATO, L., ZULLO, F. Impact of endometrial carcinoma histotype on the prognostic value of the TCGA molecular subgroups. In: *Arch Gynecol Obstet*. 2020 Jun, vol. 301(6), pp.1355-1363. Disponibil: doi:10.1007/s00404-020-05542-1. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32296930.
156. **TRIPAC, I.** Factorii molecular-genetici de prognostic în cancerului endometrial. O

- abordare modernă a problemei. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2019, nr. 4(64), pp.76-85 ISSN 1857-0011. Disponibil: https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/115181.
157. **TRIPAC, I.** Factorii molecular-genetici de prognostic în cancerul endometrial. o abordare modernă a problemei. Revista literaturii de specialitate. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2019, Nr.3, pp.98-105. ISSN 1857-0011. Disponibil: https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/115181.
 158. **TRIPAC, I., STRATAN, V.** Studiul frecvenței și spectrului mutațiilor genelor brca1 la pacienții cu neoplazii maligne primar multiple. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2019, vol. 4(64), pp.60-65. ISSN 1857-0011. Disponibil: https://ibn.idsi.md/author_articles/16033.
 159. **TRIPAC, I., FRANK G., BOGDANSCAIA, N., STRATAN, V.** Determinarea markerului de proliferare celulară KI-67 la pacientele cu cancer endometrial. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medical*. 2019, 4(64). ISSN 1857-0011. Disponibil: https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/115192.
 160. **TRIPAC, I. AGIUS, J. et al..** Status of the Sentinel Lymph Node in Patients with Endometrial Cancer Stage I-II. In: *Chirurgia*. 2022, nr. 6(117), pp. 689-697. Disponibil: doi: 10.21614/chirurgia.2786. PMID: 3658406 ISSN: 1221-9118
 161. **TRIPAC, I., SOFRONI, D., ANCUȚA, E., GUȚU, L., CIOBANU, V., BALAN, R., ROSCA, S., EȘANU, N., GOROȘENCO, E.** Particularitățile clinice și paraclinice ale pacientelor cu cancer endometrial stadiile I-III - de risc intermediar și crescut. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2017, Nr. 4(56), pp.50-55. ISSN 1857-0011.
 162. **TRIPAC, I., SOFRONI, D., ANCUȚA, E., GUȚU, L., CIOBANU, V., BALAN, R., ROSCA, S., EȘANU, N., BEȚA-MIDRIGAN, V.** Particularitățile clinico-morfologice al cancerului endometrial la pacientele în stadiile I-III de risc intermediar și crescut. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2019, Nr. 4(64), pp. 148-153. ISSN 1857-0011
 163. **TRIPAC, I.** Sentinel Lymph Node Biopsy in Endometrial Cancer. In: *Journal of Surgery*. 2022, Nr. 9(18), pp. 54-56. ISSN: 1221-9118.
 164. **TRIPAC, I.** Minimally invasive surgery management treatment in patients with atypical endometrial hyperplasia and early stage endometrial cancer. In: *Journal of Surgery*. 2022, Nr. 9(18), pp. 55-58. ISSN: 1221-9118

165. TROVIK, J., WIK, E., WERNER, H.M., KRAKSTAD, C., HELLAND, H., VANDENPUT, I., et al. Hormone receptor loss in endometrial carcinoma cure. In: *Eur. J. Cancer*. 2013, vol. 49 (16), pp. 3431-3441.
166. TSIKOURAS, P., KOUKOULI, Z., BOTHOU, A., MANAV, B., IATRAKIS, G., ZERVOUDIS, S., GALAZIOS, G., TOBIAS TEICHMANN, A.. Preoperative assessment in endometrial cancer. Is triage for lymphadenectomy possible? In: *J BUON*. 2017 Jan-Feb, vol.22(1), pp.34-43.
167. UENO, M. et al. Multiple cancer: an experience at the Cancer Institute Hospital with special reference to colon cancer. In: *Int. J Clin Oncol*. 2003, vol. 8, nr. 3, pp. 162-168
168. VAN DEN BOS M., VAN DEN HOVEN M., JONGEJAN E. More Differences Between HNPCC-related and Sporadic Carcinomas From the Endometrium as Compared to the Colon. In: *American Journal of Surgical Pathology*. 2004, vol. 28, nr. 6, pp. 706-711.
169. VAN DER PUTTEN, L.J.M., VISSER, N.C.M., VAN DE VIJVER, K., SANTACANA, M., BRONSERT, P., BULTEN, J., et al., Added value of estrogen receptor, progesterone receptor, and L1 celladhesion molecule expression to histology-based endometrial carcinoma recurrenceprediction models: an ENITEC collaboration study. In: *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2018, vol.28 (3), pp. 514–523.
170. VAN DER PUTTEN, L.J., VISSER, N.C., VAN DE VIJVER, K., M. SANTACANA, P., BRONSERT, J., BULTEN, et al. L1CAM expression in endometrial carcinomas: an ENITEC collaboration study. In: *Br. J. Cancer*. 2016, vol. 115 (6), pp. 716-724.
171. VAN RENS, M.T. et al. P53 Mutation analysis for definite diagnosis of multiple primary lung carcinoma. In: *Cancer*. 2002, vol. 94, pp. 188–196.
172. VAN DEN HEERIK, A., HOREWEG, N., DE BOER, S.M., BOSSE, T., CREUTZBERG, C.L. Adjuvant therapy for endometrial cancer in the era of molecular classification: radiotherapy, chemoradiation and novel targets for therapy. In: *Int J Gynecol Cancer*. 2021, nr. 31, pp. 594- 604.
173. VAZINA, A., et al. The rate of the founder Jewish mutations in BRCA1 and BRCA2 in prostate cancer patients in Israel. In: *Br J Cancer*. 2000, vol. 83, pp. 463–466.
174. VERSLUIS, M.A., DE JONG, R.A., PLAT, A., et al. Prediction model for regional or distant recurrence in endometrial cancer based on classical pathological and immunological parameters. In: *Br J Cancer*. 2015, vol. 113(5), pp.786–793. Disponibil: doi:10.1038/bjc.2015.268
175. VERMIJ, L., SMIT, V., NOUT, R., BOSSE, T. Incorporation of molecular characteristics into endometrial cancer management. In: *Histopathology*. 2020 Jan, vol. 76(1), pp. 52–63. Disponibil: doi: 10.1111/his.14015.

176. WANG, Z., GAO, S., SUN, C., et al. Clinical significance of serum adiponectin and visfatin levels in endometrial cancer. In: *Int J Gynaecol Obstet*. 2019, vol. 145, pp.34–39. Disponibil: doi: 10.1002/ijgo.12772.
177. WANG, Y., ZHOU, R., WANG, J.. Relationship between hypothyroidism and endometrial cancer. In: *Aging Dis*. 2019, nr.10, pp.190–196. Disponibil: doi: 10.14336/AD.2018.0224.
178. WATANABE, T. et al. H. Promoter hypermethylation and homozygous deletion of the p14ARF and p16INK4a genes in oligodendrogliomas. In: *Acta Neuropathol*. 2001, vol. 101, pp. 185-189.
179. WELLS, S.A. et al. Vandetanib in metastatic hereditary medullary thyroid cancer: Follow-up results of an open-label phase II trial. ASCO Annual Meeting Proceedings Part 1. In: *J Clin Oncol*. 2007, vol. 25, pp. 18-29.
180. WEELDEN, W. Immunohistochemical biomarkers are prognostic relevant in addition to the ESMO-ESGO-ESTRO risk classification in endometrial cancer. In: *Gynecologic Oncology*. 2021, vol. 161(3), pp.787-794. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2021.03.031>.
181. WEELDEN, C., REIJNEN, F.A., EGGINK, BOLL, D., OTTEVANGER, P.B., VAN DEN BERG, H.A., et al., Impact of different adjuvant treatment approaches on survival in stage III endometrial cancer: a population-based study. In: *Eur. J. Cancer*. 2020, vol.133. pp.104–111.
182. WIJNEN, J.T. et al. Clinical findings with implications for genetic testing in families with clustering of colorectal cancer. In: *N Engl J Med*. 1998, vol. 339, nr. 8, pp. 511-518.
183. WIJNEN, J.T. et al. Familial endometrial cancer in female carriers of *MSH6* germ-line mutations. In: *Nature Genetics*. 1999, vol. 23, pp. 142-144.
184. WILLEM, J. et al. RET as a Diagnostic and Therapeutic Target in Sporadic and Hereditary Endocrine Tumors. In: *Endocrine Reviews*. 2006, vol. 27, nr. 5, pp. 535-556.
185. World Fact Sheets. The Global Cancer Observatory. [2021-10-10]. Disponibil :<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf> .
186. World Health Organization Classification of Tumours of Female Reproductive Organs, 5th ed. 2020. [2022-07-21]. Disponibil : <https://tumourclassification.iarc.who.int/welcome/>
187. WORTMAN, B.G., BOSSE, T., NOUT, R.A., LUTGENS, L., VAN DER STEEN-BANASIK, E.M., WESTERVELD, H., et al., Molecular-integrated risk profile to determine adjuvant radiotherapy in endometrial cancer: evaluation of the pilot phase of the PORTEC-4a trial. In: *Gynecol. Oncol*. 2018, vol. 151 (1). pp. 69–75.

188. WU, L., SAXENA, S., SINGH, R.K. Neutrophils in the Tumor Microenvironment. In: *Adv Exp Med Biol*. 2020, vol. 1224(1). pp.20-42. Disponibil : doi: 10.1007/978-3-030-35723-8_1.
189. WU, Q., ZHANG, N., XIE, X. The clinicopathological characteristics of *POLE*-mutated/ultramutated endometrial carcinoma and prognostic value of *POLE* status: a meta-analysis based on 49 articles incorporating 12,120 patients. In: *BMC Cancer*. 2022 Nov 10, vol. 22(1). pp.1157-1167. Disponibil :doi: 10.1186/s12885-022-10267-2.
190. WUI-JIN KOH MC, RESEARCH FHC, ALLIANCE CSCC, et al. NCCN guidelines version 2.2019 endometrial carcinoma. NCCN Guidelines for Patients. 2019. Disponibil :www.nccn.org
191. Genetic Testing Registry (GTR). 2022. Disponibil :www.ncbi.nlm.nih.gov/
192. YANG, B., SHAN, B., XUE, X., et al. Predicting lymph node metastasis in endometrial cancer using serum CA125 combined with immunohistochemical markers PR and Ki67, and a comparison with other prediction models. In: *PLoS One*. 2016, vol.11(5)e0155145. Disponibil : doi:10.1371/journal.pone.0155145
193. YANG, Z., YANG, X., LIU, X., MA, K., MENG, Y.T., YIN, H.F., WEN, J., YANG, J.H., ZHEN, Z., FENG, Z.H., LIAO, Q.P. Clinical characteristics and prognostic characterization of endometrial carcinoma: a comparative analysis of molecular typing protocols. In: *BMC Cancer*. 2023 Mar 14, vol. 23(1). pp. 243-254. doi: 10.1186/s12885-023-10706-8.
194. YEHIA, L., KEEL, E., ENG, C. The clinical spectrum of PETN mutations. In: *Annu Rev Med*. 2020, vol.17. pp103-116. Disponibil : doi : [10.1146/annurev-med-052218-125823](https://doi.org/10.1146/annurev-med-052218-125823).
195. YU, C., WANG, J. Data mining and mathematical models in cancer prognosis and prediction. In: *Medical Review*. 2022, vol. 2(3). pp. 285-307. Disponibil :<https://doi.org/10.1515/mr-2021-0026>
196. ZANNONI GF, SANTORO A, D'ALESSANDRIS N, SCAGLIONE G, INZANI F, ANGELICO G, BRAGANTINI E, PIERMATTEI A, CIANFRINI F, BISARO B, FASSAN M; Members of PAGINE (SIAPEC) - Collaborators. Biomarker characterization in endometrial cancer in Italy: first survey data analysis. In: *Pathologica*. 2022 Jun, vol. 114(3).pp.189-198. Disponibil :doi: 10.32074/1591-951X-775
197. ZHAO, H., AND XU, Q. Long Non-Coding RNA DLX6-AS1 Mediates Proliferation, Invasion and Apoptosis of Endometrial Cancer Cells by Recruiting p300/E2F1 in DLX6 Promoter Region. In: *J. Cel. Mol. Med*. 2020, vol. 24 (21), pp.12572–12584. Disponibil : doi:10.1111/jcmm.15810

198. ZEIMET, A.G., REIMER, D., HUSZAR, M., et al. L1CAM in early-stage type I endometrial cancer: results of a large multicenter evaluation. In: *J Natl Cancer Inst.* 2013, nr 10. pp.1142- 1150.
199. ZIGHELBOIM, I., GOODFELLOW, P. J., GAO, F., GIBB, R. K., POWELL, M. A., RADER, J. S., & MUTCH, D. G. Microsatellite instability and epigenetic inactivation of *MLH1* and outcome of patients with endometrial carcinomas of the endometrioid type. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2007, vol.25(15), pp. 2042–2048. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.08.2107>
200. БОХМАН Я.В. *Руководство по онкогинекологии.* Ленинград: Медицина 1989; 432 с.
201. 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. 2016. сс. 351-352
202. **ТРИПАК, И.,** СТРАТАН, В и др. Анализ частоты рецидивирования рака эндометрия I–II стадии в соответствии с факторами прогноза. In: *Medicine. Sociology. Philosophy. Applied research.* 2022, nr.6. pp. 26-31 ISSN:2686-9365
203. **ТРИПАК, И.,** СТРАТАН, В., ЦУЦУЯНУ, В., СЫТНИК, В., ДОБРОВОЛЬСКАЯ, А. «Клинико-морфологические факторы риска рецидива рака эндометрия I стадии». В: *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки».* 2022, nr.12. pp.74-79 ISSN – 2223-2966.
204. **ТРИПАК, И.,** СТРАТАН, В., ЦУЦУЯНУ, В., СЫТНИК, В., ДОБРОВОЛЬСКАЯ, А. Выявление сигнального лимфатического узла у больных раком эндометрия I стадии. В: *International Journal of Medicine and Psychology.* 2022, vol.5(8), pp. 183-186. ISSN: 2658-3313.
205. **ТРИПАК, И.,** КАРАМАН, И., ФРАНК, Г. Определение маркера клеточной пролиферации Ki-67 у больных раком эндометрия. In: *Medicine. Sociology. Philosophy. Applied research.* 2022, nr.6 pp. 65-68. ISSN:2686-9365.
206. **ТРИПАК, И.,** СТРАТАН, В., МИШИНА, А., ДОБРОВОЛЬСКАЯ, А., ЦУЦУЯНУ, В., СЫТНИК, В., ПОПА, К. Абляция эндометрия как метод лечения предраковых состояний и ранних стадии рака эндометрия. В: *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки».* 2022, nr.11. pp. 229-233. ISSN – 2223-2966.

Chestionarul pacientelor cu cancer endometrial în stadiile I-II

Date generale

Numele _____

Prenumele _____

Vârsta _____

Data naşterii _____

Domiciliul _____

Locuitor

1. Urban

2. Rural

Nr fişei medicale sau a fişei de ambulatoriu _____

1. Vârsta la adresare cu cancer _____ (ani compleţi)

2. Răspândirea cancerului

1. IA st.

2. IB st.

3. II st.

4. III st.

5. IV st.

1. Locul de trai

1. oraş

2. sat

2. Starea familială

1. căsătorită

2. divorţată

3. nu este căsătorită

4. văduvă

5. date absente

3. Vârsta menarhe

1. până la 14 ani

2. 14-15 ani

3. 16 ani şi mai mult

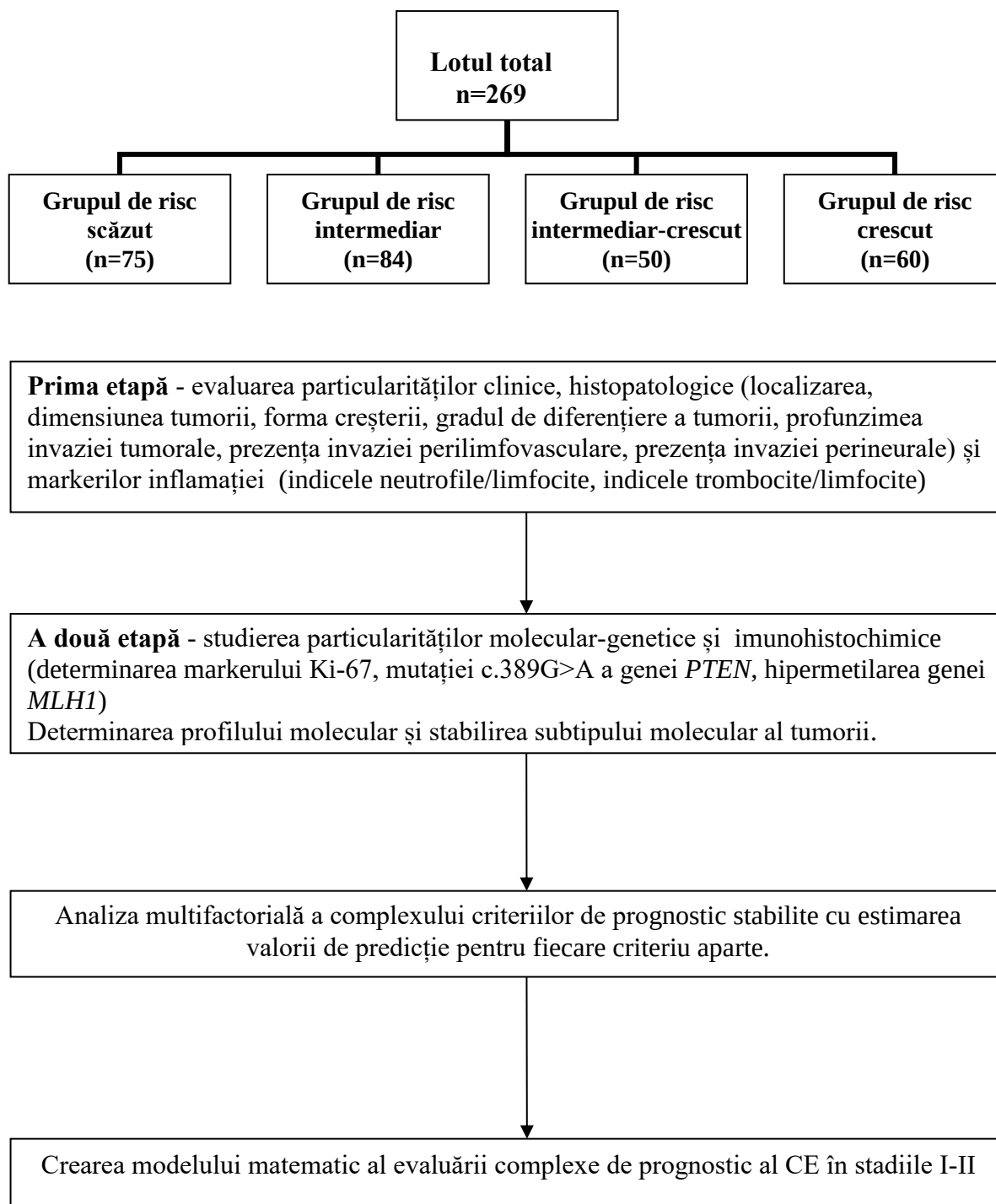
4. date absente

4. Caracterul ciclului menstrual
 1. regulat
 2. neregulat
 3. îndelungat
 4. abundent
 5. date absente
5. Starea fiziologică a organismului
 1. date absente
 2. faza reproductivă
 3. menopauză până la 5 ani
 4. 5-10 ani
 5. 10 ani și mai mult
6. Începerea vieții sexuale
 1. date absente
 2. absentă
 3. până la 20 de ani
 4. 21-25 ani
 5. 26-29 ani
 6. 30 ani și mai mult
7. Numărul de nașteri
 1. nu a născut
 2. 1 copil
 3. 2 copii
 4. 3-5 copii
 5. 6 copii și mai mult
 6. date absente
8. Numărul de avorturi
 1. nu a avut
 2. 1 avort
 3. 2 avorturi
 4. 3-5 și mai mult
9. Patologia organelor sistemului reproductiv
 1. patologia nu este depistată
 2. Mastopatia fibrochistică
 3. Eroziune a colului uterin

4. Salpingo-ooforita cronică
 5. Endometrita cronică
 6. Polipii corpului uterului
 7. Polipii canalului cervical
 8. Hiperplazia endometrială
 9. Endometrioza
 10. Miomul corpului uterului
 11. Chist ovarian
 12. Leucoplazie și krauroza vulvei
 13. Hemoleucograma.
10. Formula leucocitară
 11. Numărătoarea trombocitelor.
 12. Structura morfopatologică a cancerului endometrial (gradul de diferențiere)
 1. cancer endometrial înalt diferențiat G1
 2. cancer endometrial cu grad de diferențiere mediu G2
 3. cancer endometrial cu grad de diferențiere redus G3
 4. cancer endometrial nediferențiat
 13. Structura morfopatologică a cancerului endometrial tipul/subtipul histopatologic
 1. Adenocarcinom endometrioid;
 2. Variantă cu metaplazia scuamocelulară;
 3. Variantă viloglandulară;
 4. Cu diferențiere scuamoasă;
 5. Secretor;
 6. Ciliat;
 7. Adenocarcinom seros papilar;
 8. Adenocarcinom cu celule clare;
 9. Adenocarcinom mucinos;
 10. Carcinom scuamos;
 11. Carcinom nediferențiat;
 12. Cu celule mari sau mici;
 13. Carcinom mixt
 14. Structura morfopatologică a cancerului endometrial adâncimea invaziei
 15. Structura morfopatologică a cancerului endometrial dimensiunile și tipul creșterii
 16. Structura morfopatologică a cancerului endometrial trecere pe istmul corpului uterin și col uterin

1. Prezentă
2. Absentă
17. Structura morfolopatologică a cancerului endometrial prezența embolilor tumorale în vasele sanguine
 1. Prezentă
 2. Absentă
18. Structura morfolopatologică a cancerului endometrial invazia perivasculară și perineurală
 1. Prezentă
 2. Absentă
19. Structura morfolopatologică a cancerului endometrial prezența focarelor de necroza
 1. Prezentă
 2. Absentă
20. Structura morfolopatologică a cancerului endometrial infiltrația peritumorală limfocitară
 1. Prezentă
 2. Absentă
21. Structura morfolopatologică a cancerului endometrial numărul mitozelor și apoptozelor
22. Structura morfolopatologică a cancerului endometrial metastaze în ovarele
23. Prezența expresiei Ki -67
 1. Ki-67 < 49%
 2. Ki-67 > 49%
24. Mutația genelor
 1. *PTEN* pozitiv
 2. *PTEN* negativ
25. Mutația genelor
 1. *MLH1* pozitiv
 2. *MLH1* negativ

Designul studiului



INVENȚII

MD - BOPI 9/2019

- (11) **1367** (13) Y
(51) **Int. Cl.: A61B 17/42** (2006.01)
A61K 31/382 (2006.01)
A61N 5/10 (2006.01)
(21) s 2019 0028
(22) 2019.02.28
(71)(73) GUȚU Lilian, MD; SOFRONI Dumitru, MD;
SOFRONI Larisa, MD
(72) GUȚU Lilian, MD; SOFRONI Dumitru, MD;
SOFRONI Larisa, MD; ROȘCA Sergiu, MD;
TRIPAC Irina, MD; BALAN Roman, MD;
CASIAN Neonila, MD; EȘANU Nicolae, MD;
BUCINSCHI Vladimir, MD; ANCUȚA Eugen,
RO
(54) **Metodă de tratament al cancerului**
endometrial de stadiile I-III
(57) Invenția se referă la medicină, în special la
oncologia ginecologică, și poate fi aplicată
pentru tratamentul cancerului endometrial de
stadiile I-III.
Esența invenției constă în aceea că se efec-
tuează intervenția chirurgicală de histerec-
tomie totală cu înlăturarea bilaterală a anexe-
lor, urmată de o cură de chimioterapie cu
Cisplatin 50 mg/m² și Doxorubicină 30
mg/m²; după 10 zile de la intervenție se efec-
tuează radioterapia combinată cu două cure
de chimioterapie cu Cisplatin 50 mg/m² și
Doxorubicină 30 mg/m²; radioterapia include
4 ședințe intracavitare și 21 de ședințe ex-
terne cu doza sumară a ședințelor de radio-
terapie de 40...44 Gy; prima cură de chimio-
terapie se efectuează după prima ședință de
radioterapie, iar a doua cură se efectuează
după 21 de zile, în timpul ședințelor de radio-
terapie, apoi, după 3 săptămâni de la finisa-
rea radioterapiei, se efectuează a 4-a cură
de chimioterapie cu Cisplatin 50 mg/m² și
Doxorubicină 30 mg/m².

Revendicări: 1

- (54) **Method for treating stage I-III endometrial**
cancer
(57) The invention relates to medicine, in particular
to gynecological oncology and can be used for
treating stage I-III endometrial cancer.
Summary of the invention consists in that it is
performed the surgical operation for total
hysterectomy with bilateral removal of ap-
pendages followed by a course of chemo-
therapy with Cisplatin 50 mg/m² and Doxoru-
bicin 30 mg/m², then in 10 days after opera-
tion is carried out the radiation therapy in
combination with two courses of chemother-
apy with Cisplatin 50 mg/m² and Doxorubicin

30 mg/m², the radiation therapy includes 4
intracavitary sessions and 21 external ses-
sions with a total dose of radiotherapy ses-
sions of 40...44 Gy, the first course of chem-
otherapy is carried out after the first session
of radiation therapy, and the second course
is carried out in 21 days, during radiation
therapy sessions, then in 3 weeks after the
end of radiation therapy is carried out the
fourth course of chemotherapy with Cisplatin
50 mg/m² and Doxorubicin 30 mg/m².

Claims: 1

- (54) **Метод лечения рака эндометрия I-III**
стадии
(57) Изобретение относится к медицине, в
частности к гинекологической онкологии,
и может быть использовано для лечения
рака эндометрия I-III стадии.
Сущность изобретения состоит в том, что
выполняют хирургическую операцию по
тотальной гистерэктомии с двусторонним
удалением придатков с последующим
курсом химиотерапии с Цисплатином 50
мг/м² и Доксорубицином 30 мг/м², затем
через 10 дней после операции проводят
лучевую терапию в сочетании с двумя
курсами химиотерапии с Цисплатином 50
мг/м² и Доксорубицином 30 мг/м², лучевая
терапия включает 4 внутрисполостных се-
анса и 21 внешний сеанс с суммарной до-
зой сеансов радиотерапии 40...44 Гр, пер-
вый курс химиотерапии проводят после
первого сеанса лучевой терапии, а второй
курс проводят через 21 день во время се-
ансов лучевой терапии, затем через 3 не-
дели после окончания лучевой терапии
проводят четвертый курс химиотерапии с
Цисплатином 50 мг/м² и Доксорубицином
30 мг/м².

П. формулы: 1

- (11) **1368** (13) Y
(51) **Int. Cl.: C12G 3/06** (2006.01)
A61K 36/00 (2006.01)
A61K 125/00 (2006.01)
A61K 135/00 (2006.01)
(21) s 2019 0010
(22) 2019.02.12
(71)(73) INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI
SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDU-
CAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL RE-
PUBLICII MOLDOVA, MD

Акт
чтоб
разд

Cerere de Brevet de invenție Nr 14100/2022

AGENȚIA DE STAT PENTRU PROPRIETATEA INTELECTUALĂ A REPUBLICII MOLDOVA DIRECȚIA BREVETE	 AGEPI IDNO 1015601000112	F-01-BI-086-I-02-0762 STATE AGENCY ON INTELLECTUAL PROPERTY OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA PATENTS DIRECTION
--	---	---

nr. <u>14100</u> din <u>2022.10.26</u>	TRIPAC Irina, str. Anton Ablov 8A, MD-2019, Codru, Chișinău, Republica Moldova AGEPI 2022 NOV. 17. 1537
---	--

Examinând cererea de brevet de invenție de scurtă durată:

(21) Nr. depozit: s 2022 0057
(22) Data depozit: 2022.09.07
(54) Titlu: **Metodă de pronostic al evoluției cancerului endometrial de stadiul I-II**
(71) Solicitant: INSTITUȚIA MEDICO-SANITAR PUBLICĂ INSTITUTUL ONCOLOGIC, MD
(72) Inventatori: TRIPAC Irina, MD; STRATAN Valentina, MD; ȘÎTNIC Victor, MD; ȚUTUIANU Valeriu, MD; POPA Cristina, MD

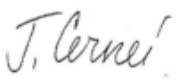
Secția Examinare (Direcția Brevete) a stabilit:

Materialele cererii corespund cerințelor articolelor 6(2), 7, 12(3), 32, 33, 35 din Legea nr. 50/2008 privind protecția invențiilor.

Vă comunicăm că examinarea preliminară s-a încheiat și cererea este inclusă în examinarea ulterioară.

Vă comunicăm că indicii Clasificării Internaționale de Brevete la care se referă invenția revendicată pot fi precizați în procedura de examinare ulterioară.

Totodată Vă rugăm să prezentați materialele cererii (descriere, revendicări, rezumat) în format electronic la adresa brevete@agepi.gov.md.

Șefă Secție Examinare,		interimat/LEVITCHI Svetlana
Examinatoare ,		CERNEI Tatiana

tel: +(373 22) 40 05 18

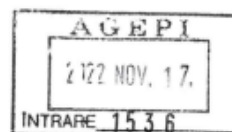
Str. Andrei Doga nr. 24/1, MD-2024, Chișinău, Republica Moldova Tel: (+373-22) 400-511, (+373-22) 400-514 Fax: (+373-22) 440-119 www.agepi.gov.md, e-mail: office@agepi.gov.md	24/1 Andrei Doga str., MD-2024, Chisinau, Republic of Moldova Tel: (+373-22) 400-511, (+373-22) 400-514 Fax: (+373-22) 440-119 www.agepi.gov.md, e-mail: office@agepi.gov.md
--	--

Cerere de Brevet de invenție Nr 14099/2022

AGENȚIA DE STAT PENTRU PROPRIETATEA INTELLECTUALĂ A REPUBLICII MOLDOVA DIRECȚIA BREVETE	  IDNO 1015601000112	F-01-BI-086-I-02-0762 STATE AGENCY ON INTELLECTUAL PROPERTY OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA PATENTS DIRECTION
---	---	---

nr. 14099
din 2022.10.26

TRIPAC Irina,
str. Anton Ablov 8A,
MD-2019, Codru, Chișinău,
Republica Moldova



Examinând cererea de brevet de invenție de scurtă durată:

(21) Nr. depozit: s 2022 0056

(22) Data depozit: 2022.09.07

(54) Titlu: **Metodă de pronostic al evoluției cancerului endometrial de stadiul I-II**

(71) Solicitant: INSTITUȚIA MEDICO-SANITAR PUBLICĂ INSTITUTUL ONCOLOGIC, MD

(72) Inventatori: TRIPAC Irina, MD; STRATAN Valentina, MD; SÎTNIC Victor, MD; ȚUTUIANU Valeriu, MD; POPA Cristina, MD

Secția Examinare (Direcția Brevete) a stabilit:

Materialele cererii corespund cerințelor articolelor 6(2), 7, 12(3), 32, 33, 35 din Legea nr. 50/2008 privind protecția invențiilor.

Vă comunicăm că examinarea preliminară s-a încheiat și cererea este inclusă în examinarea ulterioară.

Vă comunicăm că indicii Clasificării Internaționale de Brevete la care se referă invenția revendicată pot fi precizați în procedura de examinare ulterioară.

Totodată Vă rugăm să prezentați materialele cererii (descriere, revendicări, rezumat) în format electronic la adresa brevete@agepi.gov.md.

Șefă Secție Examinare,

interimat/LEVITCHI
Svetlana

Examinatoare,

CERNEI Tatiana

tel: +(373 22) 40 05 18

DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

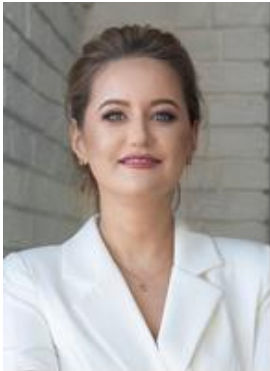
Eu, subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Tripac Irina

Semnătura

Data

CURRICULUM VITAE AUTORULUI

Dr. Irina TRIPAC 	Doctor în științe medicale (2013)
CETĂȚENIE	Republica Moldova
STUDII:	
2018-2021	Posdoctorat, postdoctorandă, specialitatea Oncologie și Radioterapie IMSP Institutul Oncologic (Republica Moldova)
2008-2013	Doctorat, doctorandă, specialitatea Oncologie și Radioterapie IMSP Institutul Oncologic (Republica Moldova)
2002-2006	Rezidențiat, specialitate Oncologie și Radioterapie, medic chirurg-oncolog Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova
2002-2008	Facultatea de Informatică și Matematică Aplicativă, specialitatea Tehnologii Informaționale Universitatea de Stat, Chișinău, Republica Moldova
1996-2002	Facultatea de Medicină generală, Diploma de medic de profil general Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova
1986-1996	Studii medii:
	Liceul Dmitrie Cantemir din or. Chișinău
STAGII:	
2019	Training in Laparoscopie chirurgicală avansată, CICE Centre International de Chirurgie Endoscopique, Strasbourg, France
2017	Training în Oncologie, Salzburg, Austria
2016	Training in Diagnostic and Operative Hysteroscopy, CICE Centre International de Chirurgie Endoscopique, Centrul ENDOFORCE, Kiev, Ucraina
2016	Training în Terapia Infuzională, Salzburg, Austria
2016	Training în Colposcopie și Vulvoscopie Avansată, Istanbul, Turkey
2013	Training în Oncologie, Salzburg, Austria
2013	Training in Clinical research, Vienna School of Clinical Research, Vienna, Austria

2013	Internship în Obstetrică și Ginecologie, Wilhelminenspital, Vienna, Austria
2010	Training în Oncologie, Salzburg, Austria
PARTICIPĂRI LA PROIECTE ȘTIINȚIFICE	
2015-2018	Proiect de cercetare „Tratamentul complex al cancerului endometrial la paciențele din grupul intermediar-crescut și crescut”, number of registration 15.817.04.17A
2012-2015	Proiect de cercetare "Metode noi de tratamentul cancerului cervical în stadiile I-II", number of registration 11.817.09.49.A
2019-2021	Proiect de cercetare „Eficacitatea și siguranța mifepristonei (2,5 mg și 5 mg) față de placebo pentru tratamentul endometriozei la femeile de vârstă reproductivă timp de 24 de săptămâni PLUS un monitorizarea eficacității și siguranței la pacienții tratați cu 2,5 mg și 5 mg mifepristonă”. Număr Proiect/Cod studiu: CLI18001/Lita-003 Cooperative Clinical Drug Research and Development Organisation, Hamburg, Germania
2019-2023	Proiect de cercetare “Evaluarea echivalenței terapeutice a unui comprimat vaginal nou dezvoltat care conține 10 µg de estradiol în comparație cu un produs de referință comercializat (Vagifem®)”. Număr Proiect/Cod studiu: 1335esd16ct/ 148-2016, Cooperative Clinical Drug Research and Development Organisation, Hamburg, Germania
PARTICIPĂRI LA MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE TOTAL/LA TEMA TEZEI	
Naționale	4 la tema tezei
Internaționale	10 la tema tezei
LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE ȘI ȘTIINȚIFICO-METODICE LA TEMA TEZEI	
Total publicate	55 la tema tezei
Monografii	1 la tema tezei
Articole în reviste internaționale (citate ISI, cotate SCOPUS)	4 la tema tezei
Articole în reviste internaționale cu impact factor	4 la tema tezei
Articole în reviste din străinătate recunoscute	5 la tema tezei
Articole în culegeri (naționale și internaționale)	33 la tema tezei
Articole în reviste din Registrul Național al revisteor de profil	28 la tema tezei
Teze la forurile științifice	13 la tema tezei
Brevete de invenție	3 la tema tezei
Participarea cu comunicări la conferințe internaționale și naționale	13 la tema tezei
APARTENENȚĂ LA SOCIETĂȚI ȘTIINȚIFICE	
2015-prezent	Membru activ al Societății Europene al Oncoginecologilor
2006-prezent	Membru al Societății Oncologilor din Republica Moldova

ACTIVITĂȚI ÎN CADRUL COLEGIILOR DE REDACȚIE ALE REVISTELOR ȘTIINȚIFICE	
2021-prezent	Recenzent pentru Journal Aging (FI 5.955)
CUNOAȘTEREA LIMBILOR	
Limba engleză	C1
Limba franceză	B1
Limba rusă	Avansat
Limba germană	A2
DATE DE CONTACT: i_iacovlev@yahoo.com , tel:069178909	