

Școala doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris

CZU: 618.145-007.415-091.8(043.2)

CAZACU Eugeniu

**STUDIUL HISTOLOGIC ȘI IMUNOHISTOCHIMIC
AL PROCESULUI DE INVAZIVITATE
DIN ENDOMETRIOZA EXTRAGENITALĂ**

311.02 – ANATOMIA PATOLOGICĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Chișinău, 2025

Teza a fost elaborată la Catedra de Patologie, Disciplina morfofpatologie
a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"
și Disciplina de morfofpatologie a Universității de Medicină și Farmacie din Craiova, România

Conducător:

Zota Eremei,
dr. hab. șt. med., prof. univ.
academician al AȘM

Conducător prin cotutelă:

Mărgăritescu Claudiu,
dr., prof. univ., UMF Craiova, România

Membrii comisiei de îndrumare:

Melnic Eugen,
dr. hab. șt. med., conf. univ.

Vataman Vladimir,
dr. șt. med., conf. univ.

Susținerea va avea loc la 11.06.2025 ora 14.00 în incinta USMF „Nicolae Testemițanu”, bd. Ștefan cel Mare
și Sfânt, 165, biroul 205 în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, aprobată prin decizia
Consiliului Științific al Consorțiului din 23.12.2024 (*proces verbal nr 52 din 22 noiembrie 2024*).

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Președinte:

Fulga Veaceslav
dr. hab. șt. med., conf. univ.
USMF „Nicolae Testemițanu”

Membrii:

Zota Eremei
dr. hab. șt. med., prof. univ.
USMF „Nicolae Testemițanu”, academician al AȘM
Mărgăritescu Claudiu
dr., prof. univ., UMF Craiova, România

Referenți oficiali:

Vataman Vladimir
dr. șt. med., conf. univ.
USMF „Nicolae Testemițanu”

Pretula Ruslan
dr. șt. med., conf. univ.
USMF „Nicolae Testemițanu”

Haidîrlî Ion
dr. hab. șt. med., conf. cercet.
Institutul de Ftziopneumologie „Chiril Draganiuc”

Mișina Ana
dr. hab. șt. med., conf. cercet.
Institutul Mamei și Copilului

Autor

Cazacu Eugeniu

CUPRINS

REPERE CONCEPTUALE ALE TEZEI/ CONȚINUTUL TEZEI	4
1. REPERE ONTOGENETICE DE EMBRIOLOGIE ȘI ANATOMIE ÎN EVOLUȚIA ECTOPIEI ENDOMETRIALE	6
2. MATERIAL ȘI METODE DE STUDIU	6
2.1. Caracteristica generală a metodologiei de cercetare	6
2.2. Metode de investigație și criterii de diagnostic	7
2.3. Metode de procesare statistică a rezultatelor	8
3. PARTICULARITĂȚI SOCIO-DEMOGRAFICE, HISTOLOGICE ȘI PROFILUL IMUNOHISTOCHEMIC DE INVAZIVITATE A ENDOMETRIOZEI EXTRAGENITALE	9
3.1. Evaluarea clinico-epidemiologică a pacienților cu endometrioză extragenitală	9
3.2. Studiul clinico-topografic al pacienților cu endometrioză	9
3.3. Particularitățile histopatologice ale leziunilor de endometrioză extragenitală	10
3.4. Evaluarea imunohistochimică a endometriozei de diferită localizare	15
CONCLUZII GENERALE	29
RECOMANDĂRI PRACTICE	29
BIBLIOGRAFIE	30
LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE	31

REPERE CONCEPTUALE ALE TEZEI

Actualitatea și importanța problemei cercetate.

Endometrioza este o afecțiune ginecologică cronică, caracterizată prin prezența țesutului endometrial funcțional în afara cavității uterine. Deși localizarea tipică a acestei boli este în zona pelvină – ovare, trompe uterine, peritoneu – în unele cazuri, țesutul endometrial poate fi găsit în afara sferei genitale, determinând ceea ce se numește endometrioză extragenitală [1, 10].

Această formă mai rară de endometrioză poate afecta o varietate de structuri și organe din afara aparatului reproductiv, inclusiv tractul urinar, tractul digestiv, diafragma, plămânii și chiar sistemul nervos. Simptomele sunt adesea nespecifice și pot varia în funcție de localizare, ceea ce face diagnosticarea dificilă [2].

Endometrioza rămâne o maladie controversată cu multiple simptome (durere pelvină cronică, dismenoree, dispareunie profundă, infertilitate, disurie, dischezie), cu efecte negative semnificative asupra activității sociale, ocupaționale și psihologice, care afectează substanțial calitatea vieții pacientelor [3,8].

Conform ultimelor date a Organizației Mondiale a Sănătății din 2023, endometrioza afectează global 10% (190 milioane) de femei cu vârsta reproductivă și fete cauzând durere și/sau infertilitate [10].

Confirmarea histologică este esențială, deoarece în multe cazuri originea leziunilor endometriozei nu este confirmată.

Endometrioza extragenitală implică o capacitate anormală a celulelor endometriale de a migra, adera și invada țesuturi aflate la distanță de cavitatea uterină. Un rol central în aceste procese îl au tranziția epitelio-mezenchimală (EMT – *epithelial-mesenchymal transition*) și metaloproteinazele matriceale (MMP – *matrix metalloproteinases*) [5].

Tranziția epitelio-mezenchimală este un proces biologic esențial în timpul dezvoltării embrionare, dar și în patogeneza unor boli precum cancerul și endometrioza. În cadrul EMT, celulele epiteliale își pierd caracteristicile de coeziune și polaritate, dobândind proprietăți mezenchimale, precum migrarea și invazia tisulară. În endometrioza extragenitală, EMT facilitează diseminarea celulelor endometriale prin vasele sangvine sau limfatice către situsuri ectopice, unde pot forma implanturi viabile [6].

Pe de altă parte, metaloproteinazele matriceale joacă un rol crucial în degradarea matricei extracelulare, permițând celulelor endometriale să pătrundă și să se stabilească în țesuturi noi. MMP-2 și MMP-9, în special, au fost implicate în patogeneza endometriozei prin facilitarea invaziei celulelor endometriale în structuri non-genitale. Activitatea crescută a acestor enzime a fost corelată cu o formă mai agresivă și extinsă a bolii [4].

Interacțiunea dintre EMT și MMP este esențială în formarea leziunilor extragenitale. Factori proinflamatori, cum ar fi TNF- α și IL-1 β , precum și semnalizarea TGF- β , stimulează EMT și reglează expresia MMP, accentuând invazivitatea și capacitatea de implantare a celulelor endometriale [7,9].

În concluzie, tranziția epitelio-mezenchimală și activarea metaloproteinazelor matriceale reprezintă mecanisme cheie care explică comportamentul invaziv al celulelor endometriale și dezvoltarea endometriozei extragenitale, susținând ideea că această afecțiune are trăsături similare cu cele ale proceselor tumorale.

Scopul cercetării: Evaluarea imuno-morfologică a focarelor de endometrioză extragenitală în vederea stabilirii potențialului de invazivitate și a criteriilor de diagnostic.

Obiectivele cercetării:

1. Identificarea histopatologică a leziunilor de endometrioză extragenitală cu conturarea unui tablou macroscopic și microscopic particular acestor leziuni;

2. Evaluarea imunohistochimică a leziunilor de endometrioză prin utilizarea markerilor pentru ER, PR și CD10;
3. Aprecierea imunohistochimică a potențialului de invazivitate al leziunilor de endometrioză extragenitală prin investigarea markerilor MMP-1 (colagenaza interstițială), MMP-2 (gelatinaza-A), MMP-9 (gelatinaza-B) și MMP-14 (proteaza transmembranară de tip 1);
4. Stabilirea modificărilor axului SDF-1/CXCR-4 în procesele de invazie și metastazare a endometriului ectopic;
5. Evaluarea expresiei markerilor specifici procesului de tranziție epitelio-mezenchimală (E-cadherină/Vimentină) în endometrioza extragenitală.

Metodologia cercetării științifice. Avizul pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării pentru realizarea studiului a fost obținut în data de 16 martie 2017, proces verbal nr. 63.

Studiile doctorale au fost realizate în perioada 2015-2020 la Catedra de Patologie, disciplina morfo-patologie a Facultății de Medicină nr. 1 a Instituției Publice Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova și Disciplina de morfo-patologie, Universitatea de Medicină Craiova, România.

Noutatea științifică a cercetării. În premieră au fost identificați markeri de prognostic cu cea mai mare capacitate de predicție a potențialului agresiv local și recidivant al acestor leziuni. Studiul MMP, deși nu este unul nou, aduce date originale privind implicarea acestora în modelarea matricei extracelulare și invazivitatea locală a leziunilor de endometrioză. Un element de noutate îl constituie panelul de MMP selectat de noi (MMP-1 – colagenaza interstițială, MMP-2 – gelatinaza-A, MMP-9 – gelatinaza-B, MMP-14 – proteaza transmembranară de tip 1), care nu a fost utilizat în nici unul din studiile accesibile de până în prezent. Cercetările anterioare au luat în calcul doar MMP-1 și MMP-2 sau MMP-9 și MMP-14 în procesul de endometrioză genitală și nu în leziunile cu localizare extragenitală. În plus, a fost determinată expresia MMP nu numai la nivelul elementelor glandulare și stromale ale leziunilor de endometrioză, dar și în țesuturile extragenitale pentru a evalua corelarea între leziunile maladiei și țesuturile în care se dezvoltă acestea.

Pentru prima dată au fost investigate simultan expresiile SDF-1 și CXCR-4, în 3 compartimente: celulele glandulare endometriale, celulele stromale endometriale și stroma adiacenta implanturilor extragenitale. În studiul dat ne-am axat pe expresia concomitentă a markerilor E-cadherină/Vimentină la nivelul leziunilor de endometrioză extragenitală. În premieră au fost determinate leziunile în care procesul de tranziție epitelio-mezenchimală (EMT) este cel mai activ și cu cel mai mare potențial de invazivitate loco-regională.

Problema științifică soluționată a constat în determinarea gradului de expresie a markerilor de agresivitate, precum E-cadherina, Vimentina, N-cadherina și Twist în progresia endometriozei.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării. Studiul a pus în evidență date noi privind originea și dezvoltarea leziunilor de endometrioză extragenitală de diversă localizare și implicarea unor mecanisme moleculare în patogenia acestei afecțiuni. Stabilirea celor mai utili biomarkeri ai prognosticului endometriozei extragenitale contribuie la stratificarea corectă a pacienților pentru un tratament ținut și eficient, aprecierea evoluției, invazivității și riscului de recidivă a maladiei.

Aprobarea rezultatelor tezei. Rezultatele studiului au fost prezentate și discutate în cadrul următoarelor forumuri științifice naționale și internaționale, precum: *Al XIV-lea Simpozion Național de Morfologie Microscopică cu participare internațională*, Tîrgu Mureș, România, 2016; *Coferința științifică anuală a cadrelor științifico – didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților USMF „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău, Republica Moldova, 2016; *Coferința științifică anuală a cadrelor științifico – didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților USMF „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău,

Republica Moldova, 2017; *The 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors “MedEspera”* Chișinău, Republic of Moldova, 2018; *Coferința științifică anuală a cadrelor științifico – didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților USMF „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău, Republica Moldova, 2018; *The USCAP 108 Th Annual Meeting, National Harbor, Maryland, USA*, 2019; *Congresul consacrat aniversării a 75-A de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău, Republica Moldova, 2020; *The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors “MedEspera”* Chișinău, Republic of Moldova, 2020; *Al XVII-lea Simpozion Național al Societății Române de Morfologie*, Craiova, România, 2021; *Al XVIII-lea Simpozion Național al Societății Române de Morfologie*, Craiova, România, 2022; *Al XIX-lea Simpozion Național al Societății Române de Morfologie*, Craiova, România, 2024; *Conferința națională științifico-practică cu participare internațională „Istorie, actualități și perspective ale serviciului de anatomie patologică, Chișinău, Republica Moldova”, 2025.*

Publicații la tema tezei. La subiectul tezei au fost publicate 27 de lucrări științifice, inclusiv 1 articol în reviste SCOPUS, 1 articol în reviste din străinătate, 3 articole în reviste naționale recenzate. Totodată au fost obținute 1 certificat de inovator și 1 act de implimentare a inovației în procesul științifico-practic.

Volumul și structura tezei. Lucrarea este expusă pe 124 pagini, care include toate elementele obligatorii stipulate de Ghidul în vigoare (2017), iconografic reprezentată prin 5 tabele, 1 formulă statistică și 45 figuri, incluse în text, 231 surse bibliografice.

Cuvinte-cheie: endometrioză extragenitală, studiu imunohistochimic, potențialul de invazivitate, matrice extracelulară, tranziție epitelio-mezenchimală.

1. REPERE ONTOGENETICE DE EMBRIOLOGIE ȘI ANATOMIE ÎN EVOLUȚIA

Reprezintă o sinteză detaliată a datelor scoase în evidență în sursele științifice și practice din istoricul problemei și din ultimii ani sub aspect, etiologic, patogenetic, economic care cuprind diagnosticul endometriozei extragenitale. Sunt expuse opțiunile conceptuale cu privire la particularitățile endometriozei extragenitale în contextul aspectelor contemporane embriologice, anatomice, histologice și fiziopatologice ale tacticii de diagnostic și tratament locale pentru soluționarea patologiei în cauză înainte de apariția complicațiilor. Este argumentată necesitatea unor studii aprofundate a proceselor de invazivitate în dezvoltarea endometriozei extragenitale, cât și elaborarea unui algoritm de diagnostic precoce în această patologie. Revista literaturii de specialitate a fost îndeplinită în baza studierii bazelor de date științifice: PubMed, NCBI, Scopus, Medline, Cochrane Lybrary.

2. MATERIAL ȘI METODE DE STUDIU ALE ENDOMETRIOZEI EXTRAGENITALE

2.1. Caracteristica generală a metodologiei de cercetare

Studiul dat a fost unul retrospectiv descriptiv bazat pe consultarea buletinelor histopatologice și evaluarea microscopică a unui număr de 43 cazuri de endometrioză extragenitală. Cazurile incluse în studiu au fost selectate în perioada 2011 – 2018 la care au fost extrase datele din fișe și blocurile din arhiva spitalelor: Spitalul Clinic Municipal ”Gheorghe Palade”, Spitalul Cancelariei de Stat, Spitalul Clinic Municipal „Sfântul Arhanghelul Mihail”, Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga” și Spitalul Clinic Județean de Urgență Craiova din România. Cercetarea a fost efectuată conform Desingului de studiu desfășurat în V etape, chestionarul elaborat și a cercetărilor biochimice, histologice și imunohistochimice.

Capitolul vizează caracteristica generală a cercetării, direcțiile principale și etapele desfășurării studiului și proiectarea lotului de studiu.

Materialul de studiu a constatat fragmentele biopsice care au fost obținute în urma exciziei focarelor de endometrioză de la paciente cu vârsta cuprinsă între 19-56 de ani, media de vârstă fiind de $39,7 \pm 9,9$ ani, iar median Md – 38,0 ani.

Pentru o mai bună acuratețe a cercetării, au fost respectate o serie de criterii de includere și de excludere, studiul fiind astfel mai bine delimitat și centrat pe un grup concret reprezentativ.

Criteriile de includere în studiu:

- stadiul progresiv al formelor moderate și severe de endometrioză extragenitală;
- genul feminin;
- vârsta între 19 și 56 de ani;
- durata maladiei (ani);
- consimțământul informat pentru a participa în studiu.

Criterii de excludere din studiu:

- ultimul tratament administrat este de până la 6 luni;
- apariția efectelor secundare ale terapiei administrate;
- prezenta patologiei cronice decompensate;
- antecedente alergice complicate;
- alcoolism, dependență de droguri.

2.2 Metode de investigație și criterii de diagnostic

I. Metoda clinică:

- Studierea retrospectivă a fișelor de observație a 43 de paciente

II. Metoda biochimică în serul sanguin:

- Explorarea biochimică a markerului CA – 125

III. Metoda macroscopică

- Descrierea materialul postoperator

IV. Metode ale explorărilor morfologicea endometriozei extragenitale:

- Metoda histologică convențională hematoxilină – eozină;
- Metoda histologică specială, colorația tricrom MASSON în modificarea GOLDNER
- Metoda imunohistochimică cu utilizarea setului de anticorpi: ER, PR, CD10, MMP1, MMP2, MMP9, MMP14, SDF-1, CXCR4, E-cadherina/Vimentina, N-cadherina, Twist.

V. Metode de prelucrare statistică a rezultatelor

- programul SPSS versiunea 16.0 pentru Windows (SPSS Inc., Belmont, CA, USA, 2008) și Microsoft Office Excel 2019 pe calculatorul personal, aplicând proceduri statistice descriptive și inferențiale.

Stabilirea diagnosticului de endometrioză a cicatricii postoperatorii s-a bazat pe prezența în anamneză a intervențiilor obstetrical-ginecologice, examenul clinic obiectiv (prezența formațiunii tumorale în proiecția cicatricii postoperatorii), caracterul ciclic al sindromului dolor, datele imagistice și de laborator.

Tratamentul pacientelor diagnosticate cu endometrioza extragenitală a fost realizat prin intervenții chirurgicale.

Determinarea CA-125. Acesta este un antigen de suprafață celulară exprimat în derivați ai epiteliului celomic, peritoneului și endocervixului. Testul în cauză utilizează anticorpi monoclonali OC 125 și M11 care poate recunoaște un determinant antigenic OC 125. Investigația a fost efectuată automat la analizator Vidas, Biomerieux, Franța.

Procedeu de prelevare a materialului. Pacientele au fost investigate clinic și imagistic, procesele fiind certificate prin examen ultrasonografic, laparoscopic, computer tomografic și imagistica prin rezonanță magnetică, datele acestor investigații au fost selectate din fișele de observație ale pacientelor. Tratamentul chirurgical a fost efectuat la toate pacientele cu endometrioză extragenitală incluse în studiu.

Macroscopic. Materialul postoperator a fost fixat în soluție formalină de 10% și trimis în secția de morfopatologie pentru examinare.

Metoda histologică. Pentru fiecare caz în parte s-au efectuat colorații histologice cu hematoxilină – eozină, iar secțiunile potrivite au fost selectate pentru colorare Tricrom Masson (modificată după GOLDNER). Pentru diagnosticul diferential s-au efectuat teste imunohistochimice.

Metodele imunohistochimice au permis detectarea și vizualizarea antigenelor în țesuturi sau celule. Studiul imunohistochimic propriu-zis s-a efectuat printr-o metodă enzimologică cu detecție cromogenică, utilizând kitul MACH 4 MICRO-POLYMER-HRP (Biocare Medical; M4U534), care este un sistem universal de detecție bazat pe complexe enzima HRP-polimer care poate detecta anticorpi atât anti-șoarece, cât și anti-iepure. Vizualizarea reacțiilor imunohistochimice s-a efectuat cu cromogenul DAB (3,3'-diaminobenzidină, Dako- 3467), iar contracolorarea cu hematoxilină Harris.

Într-o primă etapă ne-a interesat confirmarea originii endometriale a leziunilor prin evidențierea imunoreactivității pentru ER și PR la nivelul structurilor glandulare și pentru CD10 la nivelul stromei dintre aceste glande din componența leziunilor de endometrioză extragenitală.

În scopul estimării prevalenței și intensității expresiei PR și ER am utilizat scorul Allred.

În cazul evaluării procesului de tranziție epitelio-mezenchimală, respectiv a expresiei markerilor E-cadherină și Vimentină am utilizat reacții imunohistochimice duble. Rezultatul acestor reacții a constat în vizualizarea țintelor vizate cu culoarea brună pentru E-cadherina și roșie-pentru Vimentină.

Imaginile microscopice au fost obținute utilizând microscopul *Leica ECC50W* și programul *Leica application Suite*. Pentru studiul propus, secțiunile au fost fotografiate în focarele cele mai informative care conțin principale componente caracteristice endometriozei, cu obiectivele 100×, 200×, iar pentru cuantificare s-au realizat 4 imagini cu obiectivul 200× pentru fiecare caz. Glandele endometriale, celulele stromale și celulele sistemului inflamator au fost numărate pentru fiecare imagine în parte și s-a realizat apoi o medie a densității și/sau celulare a cazului.

2.3 Metode de procesare statistică a rezultatelor

Datele primare ale studiului au fost introduse într-o bază de date și procesate utilizând funcțiile și modulele din programul SPSS versiunea 16.0 pentru Windows (SPSS Inc., Belmont, CA, USA, 2008) și Microsoft Office Excel 2019 pe calculatorul personal, aplicând proceduri statistice descriptive și inferențiale. A fost utilizată metoda χ^2 după Pearson, χ^2 cu corecția lui Yates sau metoda exactă a lui Fisher pentru compararea variabilelor discrete; testul „t” sau testele statisticii neparametrice pentru determinarea diferenței statistice a valorilor medii dintre grupuri; analiza de corelație pentru aprecierea gradului de intensitate și direcției legăturilor statistice. Statistic semnificative au fost considerate diferențele cu valoarea bilaterală $p \leq 0,05$.

3. PARTICULARITATI SOCIODEMOGRAFICE, HISTOLOGICE ȘI PROFILUL IMUNOHISTOCHIMIC DE INVAZIVITATE A ENDOMETRIOZEI EXTRAGENITALE

3.1. Evaluarea clinico-epidemiologică a pacienților cu endometrioză extragenitală

Date socio-demografice. În studiu au fost incluse 43 de paciente cu endometrioză extragenitală cu vârsta cuprinsă între 19 și 56 de ani.

Tabelul 1. Distribuția cazuisticii pe grupe de vârste

Grupe de vârstă	19-20	21-30	31-40	41-50	51-60	Total
Nr. cazuri	1	8	13	14	7	43
%	2,33%	18,60%	30,23%	32,56%	16,28%	100%

Distribuția cazuisticii a fost din decada a II -a până în decada a V-a, cel mai precoce caz de endometrioză fiind diagnosticat la o pacientă de 19 ani, în timp ce cea mai vârstnică bolnavă a avut 56 de ani. Cel mai mare număr de cazuri a fost înregistrat la paciențele cu vârsta cuprinsă între 41-50 de ani, urmată de perioada 31-40 de ani care a inclus cu un caz mai puțin, reprezentând mai mult de jumătate din cazuistică (63,79%). Decada a 2-a și a 5-a cu 35% și respectiv decada I-a cu 2,33 din cazuri examinate (Tabelul 1).

3.2. Studiul clinico-topografic al pacienților cu endometrioză

În legătură cu localizarea anatomică a leziunilor de endometrioză extragenitală, rezultatele studiului nostru au fost sumarizate în figura 1. Cele mai frecvente localizări ale endometriozei extragenitale au fost cicatricea după operația cezariană – 9 (20,9 %; 95% ÎI: 10,9-34,7) cazuri, apendicele – 6 (14,0%; 95% ÎI: 6,0-26,5) cazuri, hernia inghinală – 4 (9,3%; 95% ÎI: 3,2-20,6) cazuri, cecul – 3 (7,0%; 95% ÎI: 2,0-17,5) cazuri, diafragma – 3 (7,0%; 95% ÎI: 2,0-17,5) cazuri, jejunul – 3 (7,0%; 95% ÎI: 2,0-17,5) cazuri, ombilicul – 3 (7,0%; 95% ÎI: 2,0-17,5) cazuri, rectul – 3 (7,0%; 95% ÎI: 2,0-17,5) cazuri, vezica urinară – 2 (4,7%; 95% ÎI: 1,0-14,1) cazuri. Celelalte localizări (colonul ascendent, colonul descendent, colonul sigmoid, colonul transvers, ileonul, peretele abdominal anterior și spațiul retro-peritoneal) au fost constatate la câte 1 (2,3%; 95% ÎI: 0,3-10,4) pacientă (Figura 1).

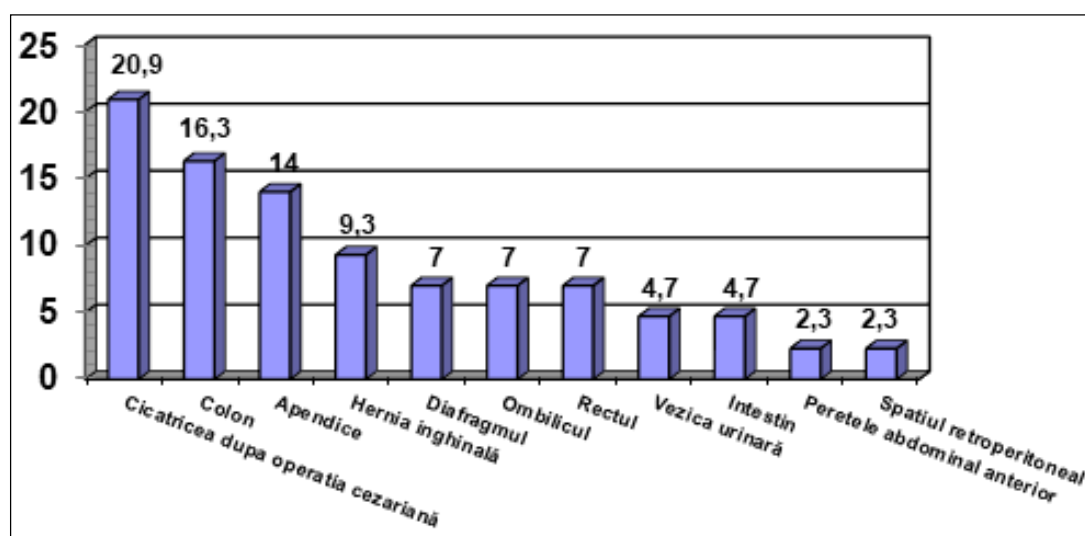


Figura 1. Repartizarea pacienților cu endometrioză extragenitală în funcție de localizarea afecțiunii (%)

Potrivit datelor prezentate în figura de mai sus endometrioza tractului gastrointestinal, a fost diagnosticată în 20 de cazuri, ceea ce a reprezentat 46,5% din cazuistica investigată. Endometrioza în cicatrice după operație cezariană a fost depistată în 9 cazuri, cea mai des întâlnită la pacientele din lotul de studiu examinat. Cea mai rară localizare a fost cea de la nivelul peretelui abdominal anterior și spațiul retroperitoneal, câte un caz fiecare, ceea ce constituie 2,3% din totalul cazuisticii investigate.

Examenul de laborator a inclus evaluarea antigenului tumoral seric CA-125, valoarea medie la pacientele din studiul nostru constituind $48,37 \pm 32,9$ U/mL (de la 3,0 U/mL până la 123,6 U/mL).

Caracteristica macroscopică a materialului. De obicei, maladia se prezenta sub formă de noduli sau implanturi de consistență dens-elastică, culoare albicios-surie (Figura 2 A). Pe secțiune se determinau focare mici de culoare cafenie, care ca mărime variaua de la dimensiuni microscopice până la diametru de 1-2 cm, cu localizare pe membranele seroase sau imediat sub acestea.

Implante endometriale sub formă de pete roșii, maronii sau negre care sunt descrise ca „*arsură de praf de pușcă*”, dar s-au depistat și leziuni roșii, albe sau nepigmentate. Pe secțiune se vizualiza țesut adipos și fibroconjunctiv cu hemoragii vechi (Figura 2 B).

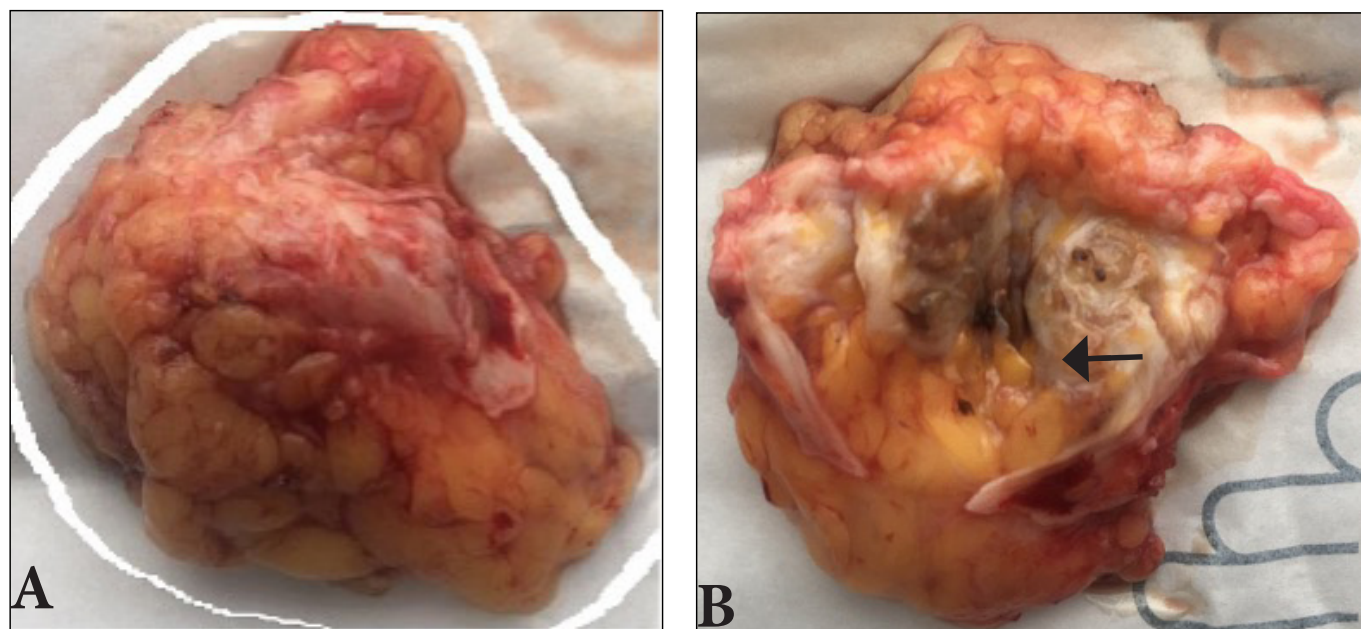


Figura 2. A – Formațiune nodulară constituită din țesut adipos și fibroconjunctiv. B - Imagine postoperatorie pe secțiune cu leziune „în arsură de praf de pușcă”. Figurile A, B publicată anterior [17].

3.3. Particularitățile histopatologice ale leziunilor de endometrioză extragenitală

Diagnosticul de endometrioză este dictat de examenul histopatologic. Prin colorația clasică hematoxilina și eozină se identifică structurile glandulare și stroma adiacentă cu localizare ectopică la nivel extern. Componenta epitelială a fost reprezentată de un epiteliu ce variază ca structură și formă de la columnar simplu, până la stratificat columnar. Componenta stromală a fost reprezentată de celule tinere: fibroblaste, limfocite și macrofage, implicate în declanșarea proceselor inflamatorii perilezionale. Implantele endometrioze au constat microscopic, din glande endometriale și stromă, cu sau fără macrofage încărcate cu hemosiderină.

Din punct de vedere histopatologic, analiza leziunilor de endometrioză extragenitală s-a concentrat pe mai multe caracteristici specifice ale țesuturilor afectate. Un prim aspect de interes a fost identificarea glandelor și a stromei de tip endometrial, componente esențiale în confirmarea diagnosticului de endometrioză. Prezența acestora indică persistența țesutului endometrial ectopic, care poate suferi modificări ciclice asemănătoare endometrului uterin normal.

Un alt element analizat a fost inflamația cronică, aceasta putând fi prezentă fie sub forma unui infiltrat inflamator difuz, fie asociată cu reacții granulomatoase care includ celule gigante de tip Langhans. Această componentă inflamatorie reflectă răspunsul imun al organismului la prezența anormală a țesutului endometrial în locații neobișnuite.

De asemenea, s-a urmărit depistarea hemoragiilor în leziunile endometriozei, acestea apărând ca urmare a fragilității vasculare și a proceselor ciclice de sângerare. Hemoragiile pot contribui la inflamație, durere și formarea de aderente fibroase.

În plus, fibroza a fost un aspect important în evaluare, aceasta reprezentând un stadiu avansat al procesului patologic, în care repetatele episoade inflamatorii și hemoragice duc la acumularea de țesut conjunctiv fibros. Aceasta poate fi responsabilă pentru rigidizarea structurilor afectate, contribuind la simptome precum durerea cronică și disfuncția organelor implicate.

Studiul histopatologic și histochimic al endometriozei extragenitale a inclus 43 de cazuri, evidențiind diverse caracteristici morfologice și reacții tisulare asociate. Glandele endometriale au fost identificate în 32 de cazuri (74,4%; 95% ÎI: 60,1-85,6), în timp ce prezența stromală a fost confirmată în toate cele 43 de cazuri (100,0%).

Procesul inflamator cronic a fost remarcat în 42 de cazuri (97,7%; 95% ÎI: 89,6-99,7), indicând un răspuns imun persistent în țesuturile afectate. De asemenea, s-au observat celule gigante de tip Langhans în 13 cazuri (30,2%; 95% ÎI: 18,1-44,9), sugerând un posibil mecanism granulomatos asociat cu leziunile endometriale ectopice.

Un alt aspect frecvent întâlnit a fost prezența hemoragiilor, detectate în 38 de cazuri (88,4%; 95% ÎI: 76,4-95,4), ceea ce reflectă fragilitatea vasculară și activitatea hemoragică a leziunilor endometriozei. Aceste descoperiri contribuie la înțelegerea mecanismelor patogenetice ale endometriozei extragenitale și pot avea implicații în diagnostic și tratament (Figura 3).

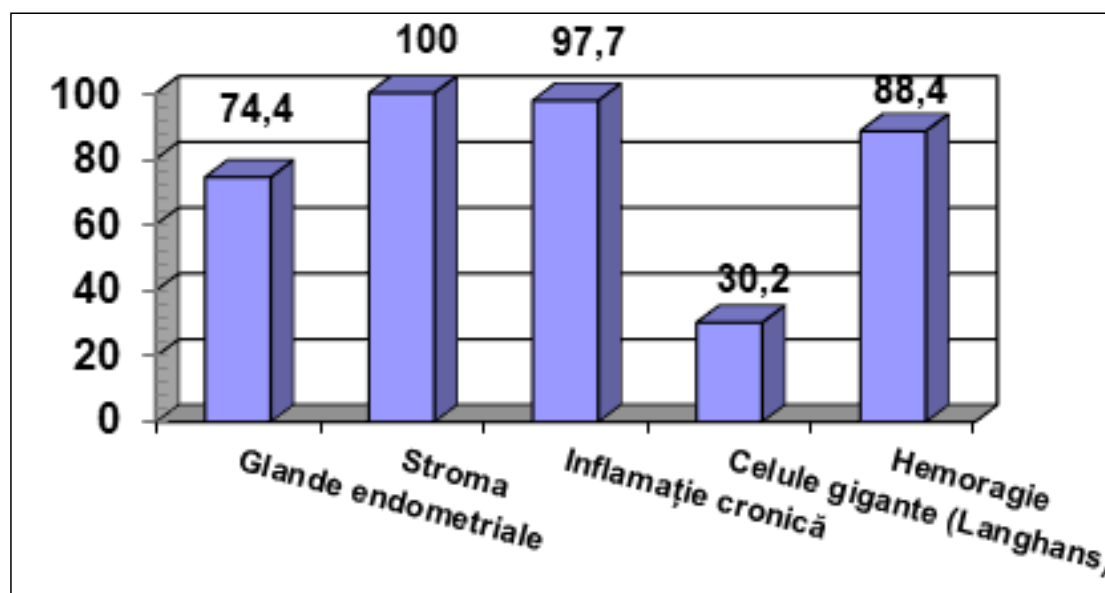


Figura 3. Repartizarea pacienților cu endometrioză extragenitală în funcție de rezultatele studiului histopatologic și histochimic (%).

Endometrioza tractului gastrointestinal în special la nivelul colonului, reprezintă o formă de endometrioză extragenitală ce poate avea un impact semnificativ asupra funcționării tractului digestiv. Această formă de endometrioză este adesea întâlnită în zone precum tunica musculară și submucoasa colonului, iar leziunile sunt frecvent multifocale, adică se prezintă sub formă de multiple focare diseminate pe diverse segmente ale colonului (Figura 4).

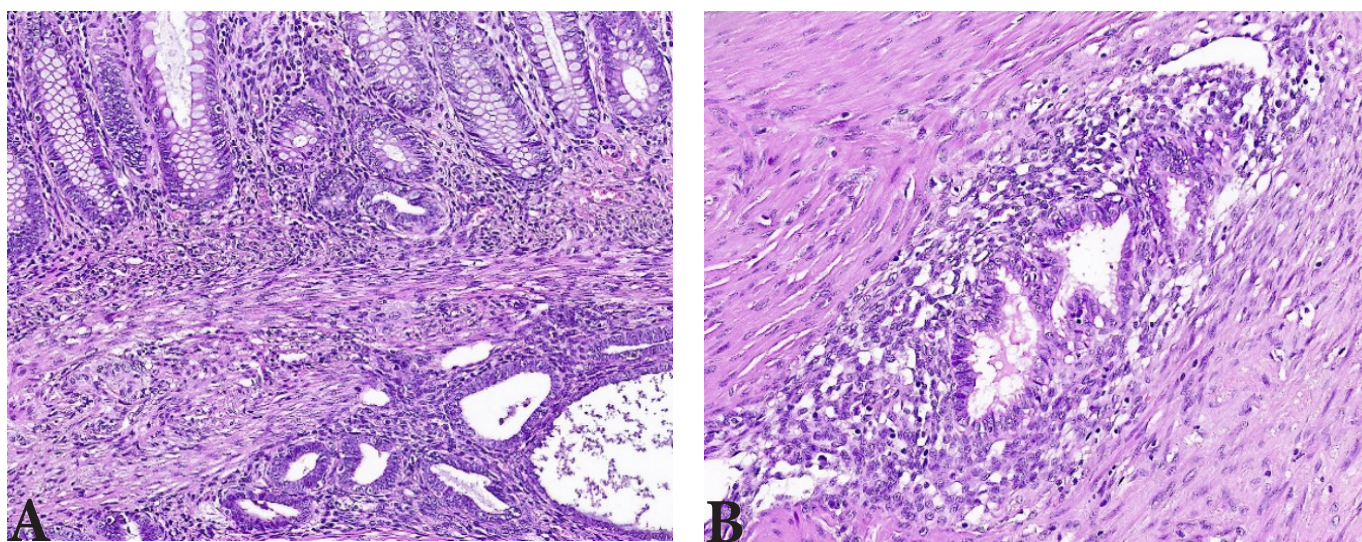


Figura 4. **Endometrioza colonului și rectului.** A – Focar endometrioic la nivelul submucoasei. B – Focar de endometrioză intramurală, intramuscular formă mixtă cu predomionarea aspectului glandular. Colorație H-E, imagini A, B $\times 200$

Din punct de vedere histopatologic, leziunile de endometrioză colonică se caracterizau prin prezența glandelor endometriale dilatate în interiorul focarelor. Aceste glande erau asemănătoare cu cele normale din uter, deși se află într-un mediu ectopic. Morfologic, glandele erau dilatate din cauza acumulării de secreții, având un aspect caracteristic în formă de „chocolate cysts” (chisturi cu conținut hematic) atunci când conțineau sânge vechi, provenit din sângerările ciclice menstruale.

La nivelul submucoasei se prezintă glande endometriale și o stromă abundentă, similară cu cea a endometrului uterin. Stroma este adesea bogată în celule fibroblastice și celule de tip stromal endometrial, care pot contribui la procesele de fibroză și formarea de aderențe, fapt care duce la stenoza peretelui colonic.

Un alt aspect cheie al leziunilor de endometrioză la nivelul colonului este prezența hemoragiilor atât în interiorul focarelor, cât și la periferia acestora. Hemoragiile se datorează fragilității vasculare a leziunilor endometrioizice, care sunt susceptibile să sângereze în fiecare ciclu menstrual. Aceste hemoragii au determinat formarea de chisturi hemoragice și la depunerea de hemosiderină, care este vizibil în imaginile de mai sus. Acest proces de hemoragie repetată este unul dintre factorii care contribuie la inflamația cronică observată în jurul focarelor de endometrioză.

Inflamația cronică în cazurile noastre a fost prezentă în toate cazurile de endometrioză a tractului digestiv și se caracterizează printr-un infiltrat celular predominant limfocitar și plasmocitar, precum și prezența macrofagelor care pot conține hemosiderină. Aceste reacții inflamatorii sunt o manifestare a răspunsului imun al organismului la prezența țesutului endometrial ectopic și contribuie la durerea pelvină cronică asociată cu endometrioza. De asemenea, în cazul endometriozei colonice, inflamația cronică poate duce la formarea de fibroză în jurul focarelor, ceea ce poate provoca stricteuri (îngustări ale lumenului intestinal), cu impact asupra motilității intestinale.

Endometrioza peretelui abdominal după operația cezariană (Figura 5) a fost prezentă în 9 cazuri, caracterizate prin glande endometriale dilatate și conținând secreții. Glandele sunt distribuite neregulat în cadrul cicatricii. Stroma a fost prezentă abundent în toate cazurile, compusă din celule stromale endometriale și fibroblaste, însoțește glandele endometriale. Acesta fiind abundent și fibroasă, cu aspect de collagen și fibre elastice, caracteristic proceselor de reparare a țesutului. Leziunile de endometrioză cicatricială au fost asociate cu un infiltrat inflamator cronic, predominant limfocitar, plasmocite și macrofage, ce sunt vizibile la periferia focarelor endometrioizice. În 8 cazuri focarele de endometrioză au prezentat depozite de hemo-

siderină în celulele inflamatorii. În jurul leziunilor de endometrioză, se observa fibroză semnificativă, care rezultă în urma inflamației cronice. Acest țesut fibros înconjură focarele endometrioze și mai târziu duce la formarea de aderențe și modificări structurale ale țesutului cicatricial.

Endometrioza vezicii urinare se caracterizează prin prezența glandelor endometriale și a stromei abundente, similare celor din endometru la nivelul în peretele vezicii urinare. Aceste leziuni au fost localizate în stratul muscular, în ambele cazuri și au fost însoțite de hemoragii ciclice, care formează chisturi hemoragice sau colecții de sânge. Inflamația cronică este o caracteristică esențială, cu infiltrate de limfocite, plasmocite și macrofage care conțin hemosiderină. În unele 3 cazuri, au fost prezente celule gigante de tip Langhans în răspunsul inflamator (Figura 6).

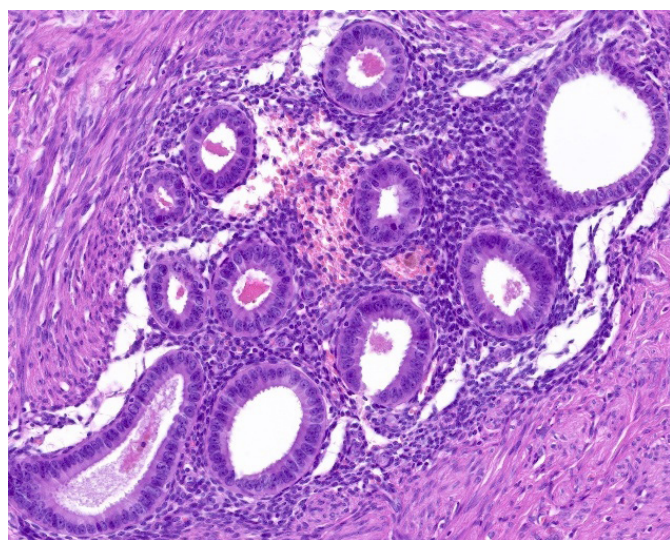


Figura 5. **Endometrioza peretelui abdominal după operație cezariană.** Focar endometrioic intramuscular cu modificări reactive, depozite de hemosiderină în stromă. Colorație H-E, imagine $\times 200$

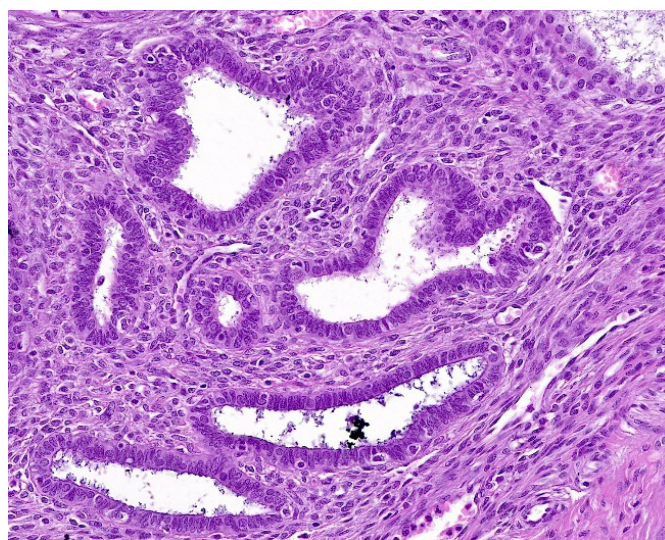


Figura 6. **Endometrioza vezicii urinare.** Focar de endometrioză glandular chistică în tunica musculară, cu dezvoltarea unui component stromal discret. Colorație H-E, imagine $\times 200$

Tabloul histologic al endometriozei sacului hernial inghinal (Figura 7) a inclus glande endometriale dilatate prezente în cadrul sacului hernial toate cazurile de endometrioză. Glandele sunt dilatate și conțin secreții specifice, asemănătoare mucusului endometrial. Alături de glandele endometriale, este prezentă o stromă abundentă, formată din celule stromale endometriale și fibroblaste. Focarele de endometrioză din hernie inghinală au fost însoțite de infiltrate inflamatorii cronice, predominant formate din limfocite, plasmocite și macrofage fiind prezență în 3 cazuri. Prezența hemosiderinei în cadrul focarelor endometrioze a fost în toate cazurile. De asemenea fibroza în jurul focarelor de endometrioză a fost prezentă în 2 din cazuri.

La examinul histologic a cazurilor de endometrioză în cicatricea post-cezariană se observă prezența unor structuri caracteristice țesutului endometrial ectopic, dispuse într-un fundal fibros intens. Se evidențiază glande endometriale căptușite de epiteliu columnar simplu, uneori cu aspect pseudostratificat, care variază ca mărime și formă și pot prezenta modificări secretorii în funcție de faza ciclului menstrual. Glandele sunt înconjurare de o stromă dens celularizată, de tip endometrial, alcătuită din celule fusiforme cu nuclei ovalari și citoplasmă palidă, cu o vascularizație bogată, ceea ce conferă o evidențiere netă a contrastului față de țesutul fibros adiacent.

În cazurile de endometrioză extragenitală, principalul element histologic identificat a fost prezența stromei endometriale, care a fost observată în toate cazurile examinate. Stroma endometrială este un

component esențial al leziunilor endometrioze și joacă un rol important în supraviețuirea și dezvoltarea focarelor ectopice de endometru.

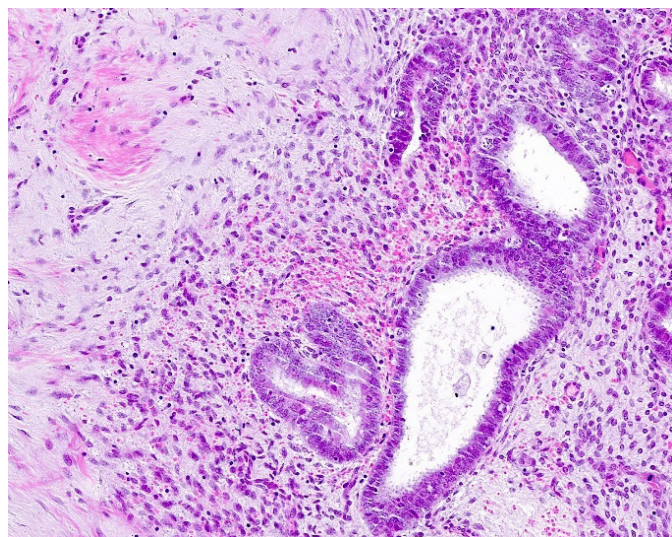


Figura 7. **Endometrioza sacului hernial inghinal.** Endometrioza chistică cu depozite de hemosideroză perifocală în componenta conjunctivă a sacului herniar. Colorație H-E, imagine $\times 200$

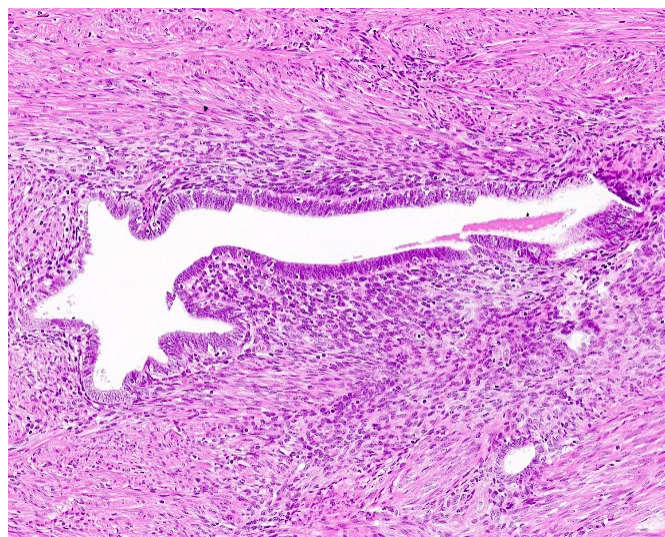


Figura 8. **Endometrioza cicatricii peretelui abdominal după intervenție cezariană.** Focar endometriozeic cu glande chistice dilatate. Colorație H-E, imagine $\times 200$

Un alt aspect frecvent întâlnit a fost inflamația cronică, caracterizată prin infiltrate de limfocite, plasmocite și macrofage, reflectând un răspuns imunitar activ la țesutul ectopic.

Depozitele de hemosiderină au fost de asemenea prezente într-un număr semnificativ de cazuri, reprezentând un indicator histologic al sângerărilor recurente din focarele endometrioze.

Glandele endometriale au fost observate în majoritatea cazurilor, constituind un element fundamental pentru diagnosticul histologic al endometriozei. Aceste glande au prezentat un aspect variabil, uneori dilatate și pline cu secreții, fiind înconjurate de stromă tipică endometrială.

Cel mai rar component histologic identificat în cazurile analizate a fost prezența celulelor gigante polinucleate de tip Langhans, observate doar în unele leziuni. Aceste celule sunt caracteristice unui proces inflamator granulomatos și pot apărea în contextul unei reacții imune susținute, însă prezența lor nu este un element definitoriu pentru endometrioza.

Stroma endometrială, inflamația cronică și depozitele de hemosiderină sunt caracteristici comune și constante ale endometriozei extragenitale, în timp ce glandele endometriale rămân un criteriu esențial pentru diagnostic. Prezența celulelor gigante Langhans a fost un fenomen rar, dar poate indica un proces inflamator mai complex în anumite cazuri.

Focarele de endometrioza cu diferită localizare colorația Trichrom Masson modificată după GOLDNER a fost utilă pentru evidențierea relației dintre stromă, componenta glandulară și fibroza care se dezvoltă în aceste leziuni. Focarele de endometrioza cu un grad de fibroză ridicat sugerează o durată îndelungată a bolii care pot forma aderențe între organe și țesuturi.

Glandele endometriale s-au evidențiat bine datorită contrastului cu stroma și au arătat că endometrioza implică o proliferare a țesuturilor endometriale. Stroma a fost în contrast cu țesuturile care o înconjoară datorită structurilor fibroase care o constituie.

Prin urmare, diagnosticul histopatologic este obligator și informativ, dar uneori trebuie confirmat prin teste imunohistochimice.

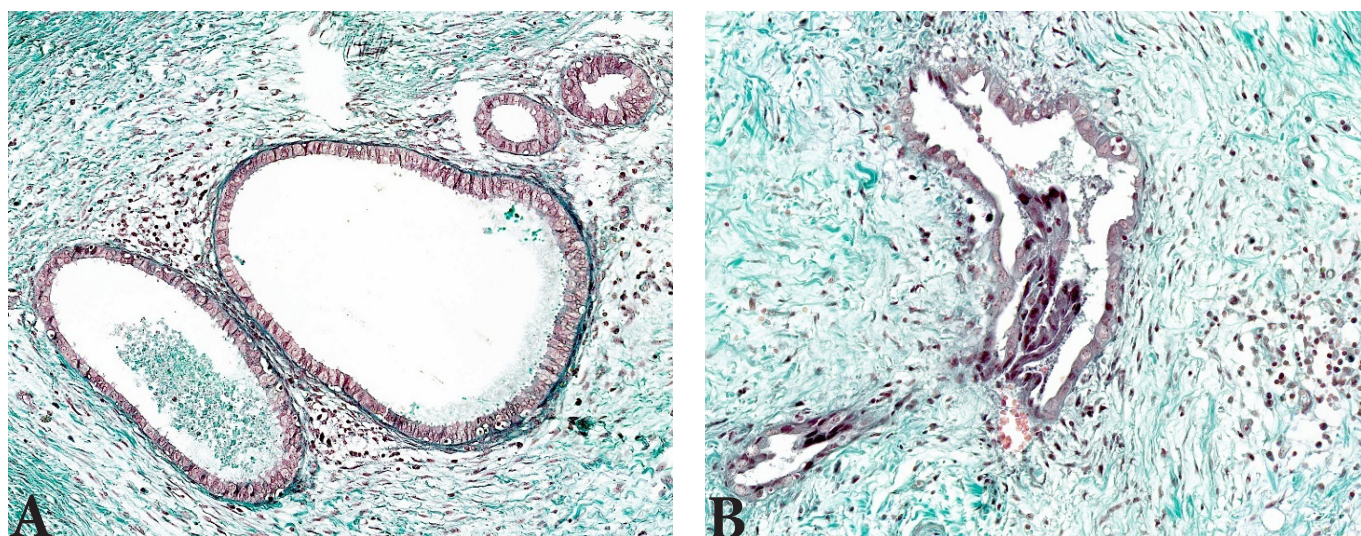


Figura 9. Colorația Trichrom Masson în modificarea GOLDNER – intensitatea componentei de collagen în stroma endometrioică. A – endometrioză forma glandulară cu componenta conjunctivă redusă periglandular. B – focar endometrioic ratatinat cu abundență marcată fibrilar conjunctiva și activitatea redusă a stromei endometriale. Imaginile A, B $\times 200$

3.4. Evaluarea imunohistochimică a endometriozei de diferită localizare

În prezent, este bine cunoscut faptul că evaluarea histopatologică nu mai este considerată singura metodă de diagnostic pentru endometrioza extragenitală. Evaluarea inițială, bazată pe criterii morfologice, trebuie obligatoriu complementată cu analiza profilului imunohistochimic.

Studiul imunohistochimic al invazivității în endometrioza extragenitală s-a derulat pe trei direcții majore urmărindu-se:

- Determinarea cazurilor certe de endometrioză extragenitală prin aplicarea markerilor ER, PR și CD10;
- Investigarea potențialului intrinsec de invazivitate locală a celulelor endometrului și a stromei din componența endometriozei prin evaluarea markerilor MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-14 și SDF-1/CXCR4;
- Investigarea gradului de implicare în procesul de tranziție epitelio-mezenchimală (TEM) a factorilor de tranziție mezenchimală, prin studierea imunoexpresiei markerilor E-cadherin/Vimentin, N-cadherin, Twist.

Această investigație imunohistochimică s-a realizat în corelație cu principalele variabile de interes morfo-clinic a pacientelor investigate, respectiv vârsta, topografie lezională.

Expresia imunohistochimică a markerilor pentru estrogeni (ER), progesteron (PR) și CD10. Markerii pentru ER și PR au prezentat o colorație nucleară intensă în celulelor epiteliale de la nivelul glandelor endometriale și la nivelul stromei din focarele de endometrioză extragenitală cu diversă localizare, cât și în cazurile cu endometru normal. În cazurile de endometrioză de la nivelul tractului digestiv, receptorii hormonal au fost prezenți într-un număr de 39 cazuri de celule epiteliale glandulare cât și la nivelul stromei, în aproximativ 80-90% de cazuri. În cazurile de endometrioză retroperitoneală, a diafragmului și ombelicală s-a înregistrat o reacție slabă cu un scor Allred 3. Expresia receptorilor pentru ER s-a corelat $r=0,05$ direct proporțional cu expresia receptorilor pentru PR în celulele epiteliale glandulare și stromale care au manifestat un scor Allred 8 atât la nivelul focarelor de endometrioză, cât și în cazurile cu endometrul normal.

Confirmarea imunohistochimică a leziunilor de endometrioză a fost realizată prin aplicarea unui panel de markeri specifici, incluzând receptorii hormonal estrogenici (ER), progesteronici (PR) și markerul

stromal CD10. Rezultatele obținute au evidențiat o expresie semnificativă a tuturor celor trei markeri, atât în ceea ce privește proporția celulelor pozitive, cât și intensitatea reacției imunohistochemice.

Pentru receptorul de estrogen (ER), scorul proporțional mediu a fost de $3,88 \pm 1,2$, indicând o proporție moderată spre ridicată de celule pozitive, în timp ce scorul intensității a fost de $2,65 \pm 0,6$, reflectând o colorație de intensitate moderată până la intensă. Scorul total mediu pentru ER a fost de $6,53 \pm 1,6$, ceea ce atestă o expresie globală ridicată a acestui marker. Rezultatele au fost similare pentru receptorul de progesteron (PR), unde scorul proporțional a avut o valoare medie de $3,95 \pm 1,1$, iar scorul de intensitate a fost de $2,63 \pm 0,6$. Scorul total mediu pentru PR a fost de $6,58 \pm 1,3$, sugerând o expresie susținută a receptorului în celulele examinate.

În ceea ce privește markerul CD10, specific stromei endometriale, scorul proporțional mediu a fost de $3,88 \pm 1,1$, iar intensitatea medie a colorației a fost de $2,56 \pm 0,6$. Scorul total mediu de $6,44 \pm 1,5$ indică o expresie clar pozitivă în stroma leziunilor, confirmând originea endometrială a țesutului conjunctiv prezent (Figura 10).

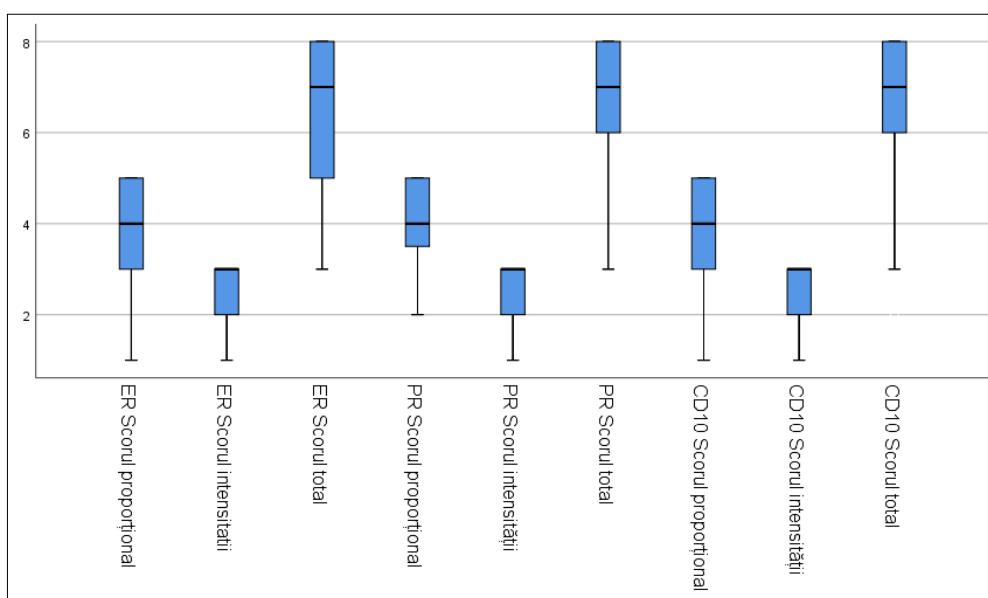


Figura 10. Valorile medii a anticorpilor ER, PR și a markerului stromal CD10 la pacientele cu endometrioză extragenitală. Toți acești markeri au indicat un scor total al reacțiilor de 6,50

Toți cei trei markere – ER, PR și CD10 – au fost exprimați pozitiv, cu scoruri medii ridicate, atât ca proporție de celule pozitive cât și ca intensitate. Acest lucru confirmă caracterul endometrial al leziunilor din cicatricea post-cezariană, ceea ce susține diagnosticul de endometrioză extragenitală.

Aceste rezultate imunohistochemice susțin cu certitudine diagnosticul de endometrioză cicatricială, prin demonstrarea expresiei receptorilor hormoni specifici endometrului și a markerului stromal CD10, toate cu scoruri ridicate care reflectă un profil imunohistochimic tipic pentru leziunile de endometrioză.

Celule endometriale au prezentat o colorație nucleară intensă în celulele endometriale și de la nivelul stromei din focarele de endometrioză extragenitală cu diversă localizare (Figura 11). Analiza de corelație între expresia ER de la nivelul situsurilor cu endometrioză extragenitală precum și la nivelul endometrului normal împreună cu caracteristicile clinico-patologice nu a relevat diferențe semnificative statistic ($p=0,003$).

Markerul PR a prezentat o colorație nucleară intensă atât la nivelul celulelor endometriale cât și în cazurile cu endometrul normal. Expresia PR pozitivă și caracteristicile clinico-patologice nu au înregistrat diferențe semnificative statistic în raport cu localizarea endometriozei. Endometrioza peretelui abdominal anterior, scorul Allred PR a avut în mai mult de o treime din cazuri (36,36%) valoarea 5, iar în 88,88% cazuri de endometrioza cu alte localizări cum ar fi cea de la nivelul tractului digestiv și vezicii urinare s-a

constatat un scor înalt (8). Analiza statistică dintre celule endometriale cu receptori ER pozitive și proporția de celule endometriale cu receptori PR pozitive nu a evidențiat diferențe semnificative statistice (scorul total – $6,58 \pm 1,3$). Receptorii PR au prezentat imunoreactivitatea cea mai redusă în endometrioza diafragmei.

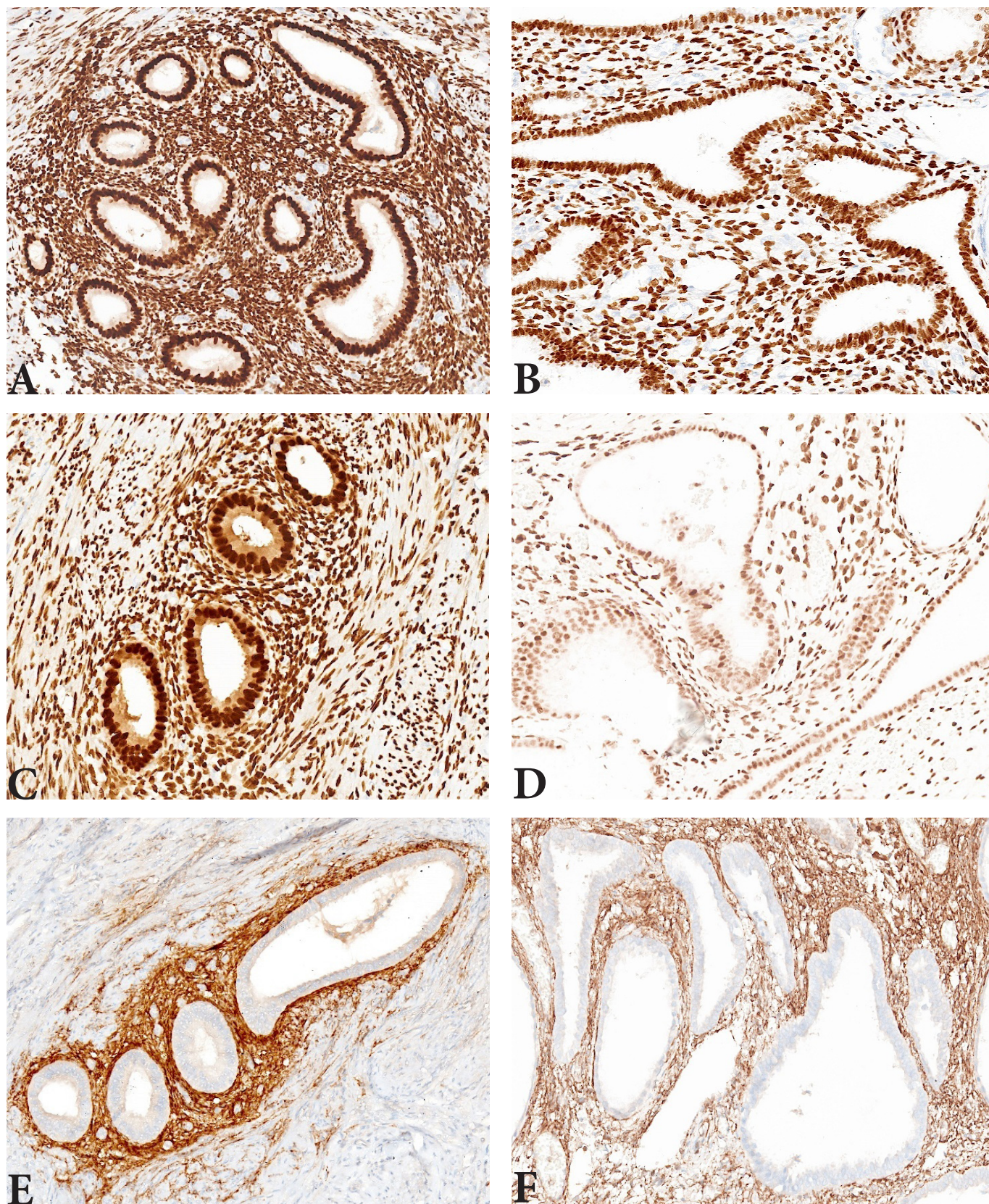


Figura 11. Expresia markerilor ER, PR și CD10. Endometrioza în hernie inghinală, imaginile A, C, E. Endometrioza vezicii urinare, imaginile B, D, F. A, B – reacție nucleară intens pozitivă (scor 3+) a markerului ER la nivelul glandelor endometriale. C, D – reacție nucleară intens pozitivă (scor 3+) a markerului PR la nivelul glandelor endometriale și stromei. E, F – imunoexpresia markerului stromal CD10, exprimat intens (scor 3+) la nivelul stromei focarului de endometrioză. Colorație IHC-DAB $\times 200$

Imunoexpresia markerilor ER și PR în endometrioză au indicat un imunomarcaj evidențiat (3+) într-un număr mare 40 de cazuri, fiind pozitiv la nivel nuclear atât în glandele endometriale, cât și la nivelul stromei.

În studiul nostru, scorul ER în endometrioza extragenitală a fost înalt în majoritatea cazurilor (78,94%), cu o exprimare nucleară puternică în celulele endometriale, susținând rolul medierii hormonale în patogeneza endometriozei. Expresia ridicată a receptorilor estrogenici (ER) în endometrioză și variațiile mari ale acesteia, de tipul $3,88 \pm 1,2$, sugerează o complexitate în modul în care acești receptori sunt exprimați în diferite contexte ale bolii. Una dintre posibilele cauze ale acestei variabilități ar putea fi implicarea unor izoforme ale receptorului estrogenic, care ar putea influența modul în care ER se comportă în celulele afectate de endometrioză.

Raportarea unor nivele ridicate de ER, în paralel cu o exprimare scăzută a ER, ar putea indica o compensare sau o adaptare a organismului la modificările fiziologice ale endometrului eutopic (țesutul sănătos care tapetează uterul), mai ales în contextul modificărilor hormonale asociate cu endometrioza. Aceste schimbări ar putea fi un mecanism prin care celulele endometriale din focarele ectopice răspund la condițiile hormonale anormale, ce caracterizează această afecțiune.

Expresia epitelială a receptorilor pentru PR în endometrioză, care nu a fost semnificativ mai scăzută față de cea din stroma tumorală ($p=0,807$), sugerează o componentă relativ uniformă a răspunsului la progesteron în aceste două regiuni, în ciuda caracteristicilor patologice ale bolii. Aceasta ar putea fi interpretată ca un semn al unei sensibilități reduse sau al unei receptivități scăzute la stimularea cu progesteron, atât în țesutul epitelial, cât și în stroma tumorală.

La nivelul endometrului normal și în endometrioză am consemnat reactivitate pentru CD 10, aceasta fiind prezenta citoplasmatic la nivelul celulelor stromale.

Imunoexpresia markerului CD10 a fost intensă în stroma endometrioică la nivelul tractului digestiv și vezicii urinare, care a prezentat un scor total IHC de 8 față de cea de la nivelul herniei inghinale, retroperitoneale unde a fost înregistrat un scor mediu 4. Trebuie însă menționăm că pacientele erau în menopauză.

Markerul CD10 a pus în evidență celule stromale endometriale care au rămas neobservate pe secțiunile hematoxilină-eozină în 3 dintre cazuri. Colorația a fost citoplasmatică, puternică și difuză. Celulele reactive au format manșete subțiri în jurul glandelor sau au fost aranjate difuz printre macrofage și celulele inflamatorii. Markerul în cauză nu a prezentat reactivitate în glandele endometriale sau în alte țesuturi. În 2 cazuri (1 din diafragm, 1 din retro-peritoneal) nu au fost prezente celule reactive la CD10.

Aprecierea imunohistochimică a potențialului de invazivitate implicat în modelarea matricei extracelulare. Metaloproteinazele reprezintă o subclasă imensă de proteaze, foarte similare structural, dar variate în ceea ce privește localizarea celulară și tisulară.

În cadrul acestui studiu am analizat imunohistochimic 43 de cazuri cu diagnosticul clinic de endometrioză extragenitală și 6 cazuri de endometru normal, prelevate de la paciente supuse intervențiilor chirurgicale. Pentru toate cazurile luate în studiu am studiat expresia:

- collagenazelor: MMP-1
- gelatinazelor: MMP-2, MMP-9
- membranare: MMP-14.

Expresia imunohistochimic al MMP-1, MMP-2, MMP-9 și MMP-14 a fost una diferită. Markerii MMP-2, MMP-9, MMP-14 au manifestat o expresie variabilă nu doar de la un caz la altul dar și în limitele aceluiași caz. Este important de menționat că celule glandulare din centru focarelor ectopice au prezentat o

reacție de intensitate crescută în comparație cu o expresie slabă în focarul periferic al endometriozei.

Reactivitatea pentru MMP-1 în focarele de endometrioză extragenitală a fost prezentă la nivelul stromei, pattern reacției fiind preponderent membranar.

Imunoreacția pentru MMP-1 a fost identificată în 21 din cazuri cu endometrioză (48,83%), scorul mediu IS înregistrat fiind de $0,58 \pm 0,5$ și doar în 1 din cazuri cu endometru normal. Colorarea pentru MMP-1 a fost prezentă la nivelul stromei cu intensitate predominant slabă (Figura 12). Analiza intensității MMP-1 în raport cu nivelul scorului histopatologic compozit a indicat diferențe semnificative ($p=0,003$), intensitatea crescută a marcajelor fiind asociată cu (ST) IHC scăzut.

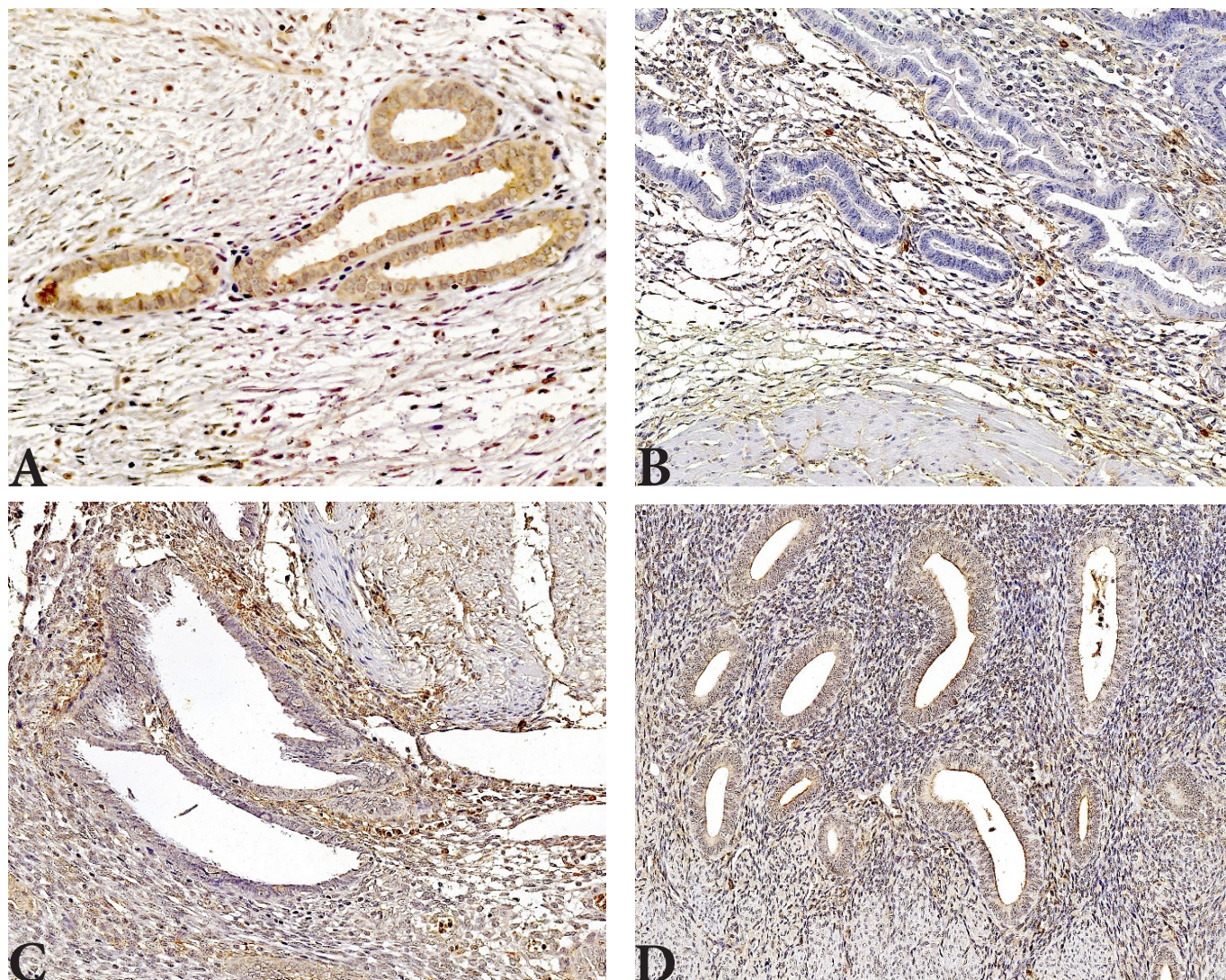


Figura 12. **Expresia markerului MMP-1 în endometrioza extragenitală.** A – endometrioza la nivelul cicatricei după operație cezariană. Reacție negativă (scor 0) la nivelul stromei. B – endometrioza la nivelul colonului. Reacție slab pozitivă (scor 1+) la nivelul stromei. C – endometrioza intestinului. Reacție slab pozitivă (scor 1+) la nivelul stromei. D – endometru normal. Reacție slab pozitivă (scor 1+) la nivelul stromei. Col. IHC-DAB, $\times 200$

La nivelul focarelor de endometrioză reactivitatea pentru MMP-2 a fost prezentă atât la nivelul stromei, cât și a glandelor, patternul reacției fiind preponderent membranar. Reactivitatea citoplasmatică pentru MMP-2 consemnată și la nivelul celulelor endoteliale a vaselor de sânge, la nivelul fibrelor musculare striate, fibroblaștilor stromali și macrofagelor (Figura 13).

Imunoreacția pentru MMP-2 a fost identificată în 31 din cazuri cu endometrioză (72,09%), scorul mediu IS înregistrat fiind de $0,97 \pm 0,8$ și în toate cazurile de endometru normal. Colorarea pentru MMP-2 a fost determinată la nivelul glandelor și stromei cu intensitate predominant moderată.

Analiza intensității MMP-2 în raport cu nivelul scorului histopatologic compozit a indicat diferențe semnificative ($p=0,002$), intensitatea crescută a marcajelor fiind asociată cu (ST) IHC scăzut.

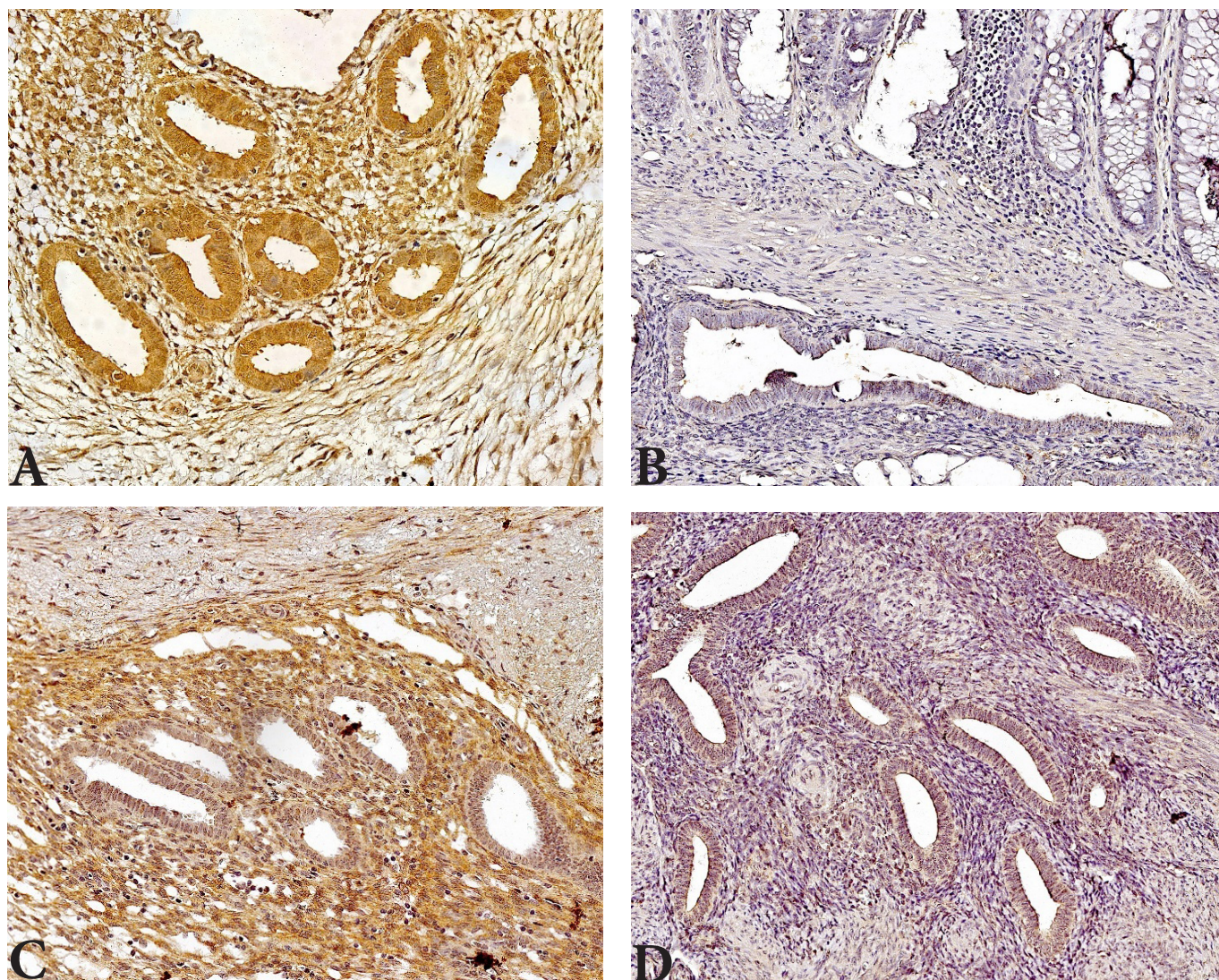


Figura 13. **Expresia markerului MMP-2 în endometrioza extragenitală.** A – peretelui abdominal după operație cezariană. Reacție pozitivă la nivelul stromei endometriale (scor 2+). B – endometrioza la nivelul colonului. Reacție negativă (scor 0). C – endometrioza intestinului. Reacție intens pozitivă (scor 3+) la nivelul stromei endometrial. D – endometru normal. Reacție slab pozitivă (scor 1+) pentru MMP-2 la nivelul stromei endometriale. Colorație IHC-DAB, $\times 200$

La nivelul focarelor endometrioze reactivitatea pentru MMP9 a fost prezentă la nivelul stromei și glandelor, pattern reacției a fost membranar și citoplasmatic (Figura 14). Ultimul, cel citoplasmatic a fost mai evident la nivelul glandelor endometriale. În plus, reactivitatea pentru MMP-9 a fost pusă suplimentar în evidență și la nivelul celulelor endoteliale ale vaselor de sânge, fibroblaștilor și celulelor inflamatorii. Imunoreacția pentru MMP-9 a fost identificată în 37 cazuri de endometrioză (92,5%) și în toate cazurile de control, scorul mediu IS înregistrat fiind de $2,21 \pm 0,7$ din totalul cazurilor examinate.

Imunoreacția pentru MMP-14 a fost identificată în 33 de cazuri de endometrioză (82,5%) și absentă în 2 cazurile de endometru neafectat. Colorarea pentru MMP-14 a fost prezentă doar la nivelul glandelor endometriale cu intensitate predominant moderată. Analiza intensității MMP-14 în raport cu nivelul scorului total IHC a indicat diferențe semnificative ($p=0,005$), intensitatea slabă sau moderată a marcajelor fiind asociată cu (ST) IHC scăzut.

Expresia MMP-2 și MMP-14 a fost semnificativă (2+) în celulele glandulare din leziunile endome-

trioize, în timp ce MMP-9 a fost evidentă (2+) atât în celulele stromale, cât și în cele glandulare. Expresia MMP-1 a fost absentă în cazurile de endometrioză de perete abdominal și în țesutul normal. Endometrul neafectat a prezentat reactivitate ridicată pentru MMP-14 și MMP-9 și afinitate scăzută pentru MMP-2.

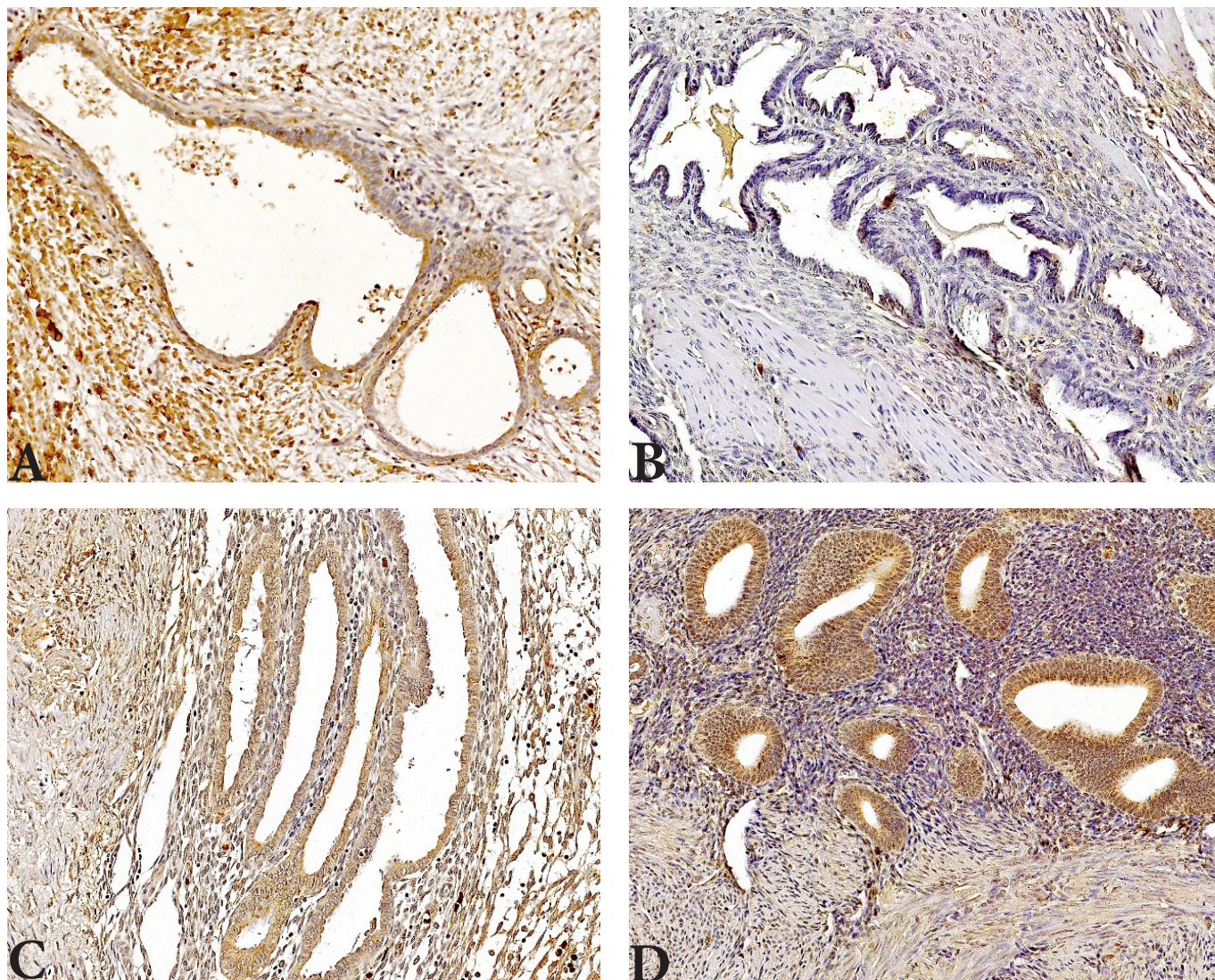


Figura 14. Expresia markerului MMP-9 în endometrioza extragenitală. A – endometrioza peretelui abdominal după operație cezariană. Reacție de intensitate moderată (scor 2+) la nivelul stromei. B – endometrioza la nivelul colonului. Reacție negativă (scor 0) la nivelul stromei și la nivelul glandelor. C – endometrioza intestinului. Reacție de intensitate moderată (scor 2+) la nivelul stromei și glandelor endometriale. D – endometru normal. Reacție de intensitate moderată (scor 2+) la nivelul stromei și glandelor endometriale. Colorație IHC-DAB, $\times 200$

Reactivitatea MMP-2, MMP-9 și MMP-14 în leziunile endometrioze a fost mai mare decât în endometrul eutopic. Au fost efectuate colorații imunohistochemice pentru MMP-2 și MMP-9 în endometrioză, evaluând gradul de fibroză și infiltratul limfocitar. Colorarea nucleară a MMP-2 în glande, colorarea membranară și citoplasmatică a MMP-9 în stromă au fost considerate pozitive.

Colorarea focarelor intestinale a fost difuză și intensitatea a fost puternică (3+). În cazul peretelui abdominal intensitatea endometriozei a fost moderată (2+), în timp ce colorația endometriozei eutopice a fost difuză și intensitatea a fost slabă spre moderată (1-2+) în toate cazurile. MMP-14 a fost pozitiv, iar intensitatea a fost moderată în ambele cazuri. Expresia MMP-1 pe țesuturile examinate a fost absentă în endometrioză și în cazurile de țesut eutopic.

Analiza imunohistochimică a demonstrat o creștere semnificativă a expresiilor MMP-9 și MMP-14 în endometrioză și în endometru. Expresia MMP-9 și MMP-14 a fost mai intensă la interfața leziunii endometrioze de la nivelul peritoneului.

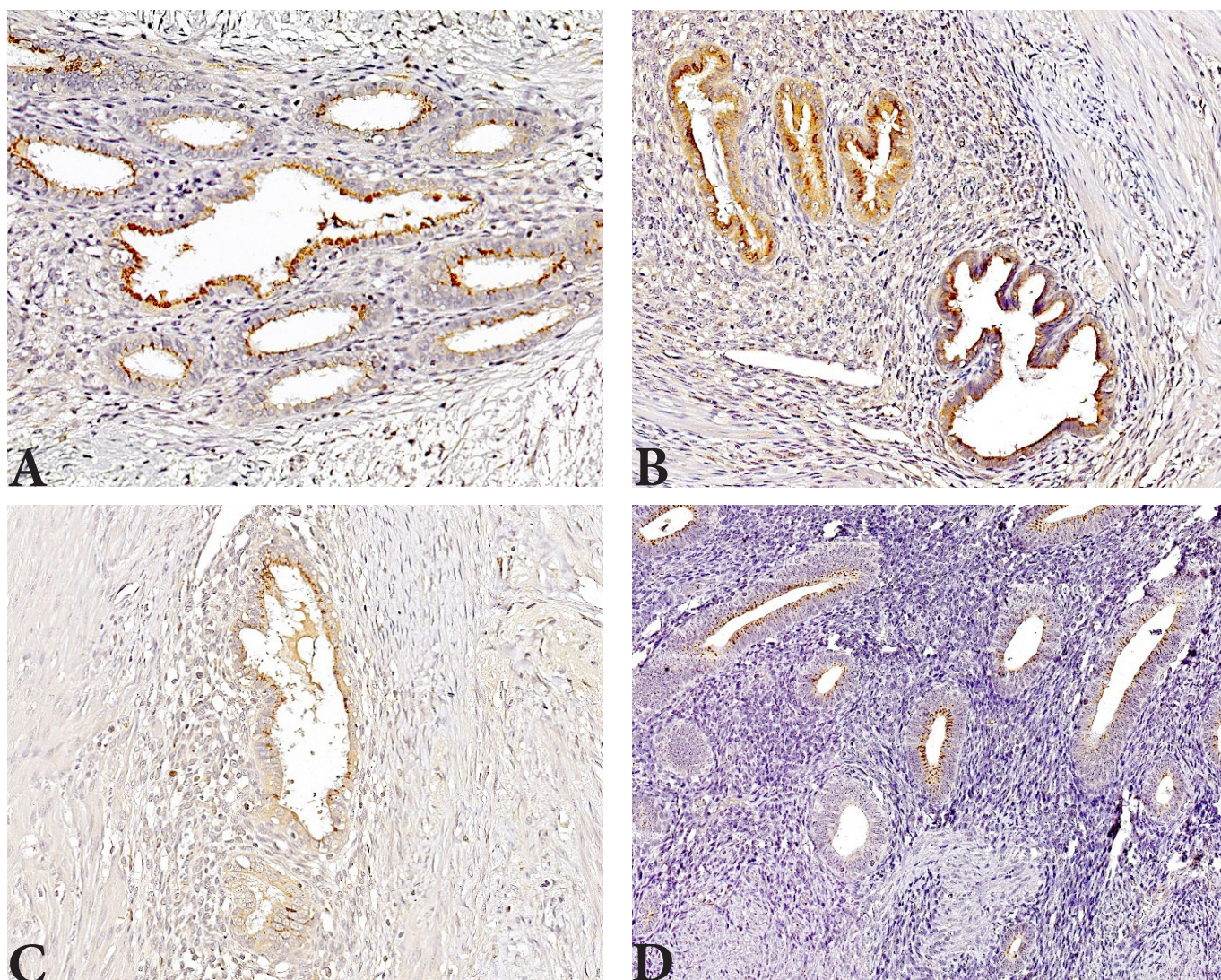


Figura 15. **Expresia markerului MMP-14 în endometrioza extragenitală.** A – peretelui abdominal după aoperație cezariană. Reacție slab pozitivă (scor 1+) la nivelul glandelor endometriale. B – endometrioza la nivelul colonului. Reacție moderată (scor 2+) la nivelul glandelor endometriale. C – endometrioza intestinului. Reacție slab pozitivă (scor 1+) la nivelul glandelor endometriale. D – endometru normal. Reacție slab pozitivă (scor 1+) la nivelul glandelor endometriale. Colorație IHC-DAB, $\times 200$

Creșterea activității MMP-9 și MMP-14 a fost, de asemenea, observată în stroma endometrului ectopic delimitat de țesutul adiacent leziunii endometrioze. Activitatea sporită a MMP-9 în stroma endometrului ectopic delimitat de stroma subiacentă a fost însoțită de formarea infiltratelor de macrofage-limfocite.

Astfel, rezultatele cercetărilor obținute sugerează că creșterea activității MMP-9 în leziunea endometrioze de la hotarul cu stroma subiacentă promovează invazivitatea endometrului ectopic prin remodelarea stromei subiacente și infiltrarea celulelor endometriale în peritoneu. Activitatea crescută a MMP-2 a fost observată și la limita stromei subiacente a endometrului ectopic. A fost constatat că expresia intensificată a MMP-9 în endometru normal predomină în membranele exterioare ale celulelor endometriale, în timp ce expresia MMP-14 a fost determinată în interior. Astfel, rezultatele obținute indică creșterea activității MMP-9 și MMP-14 în locurile de leziune endometrioze.

Analiza expresiei MMP-1 a relevat valori scăzute, cu un scor proporțional mediu de $0,58 \pm 0,5$ și un scor de intensitate de $0,70 \pm 0,7$, rezultând un scor total mediu de doar $0,98 \pm 0,9$. Valorile mediane au fost în general joase ($Md = 1,0$), în concordanță cu intervalele intercuartile reduse (IIQ: 0–2,0), ceea ce sugerează o exprimare slabă a acestei enzime în leziunile studiate.

În mod similar, expresia MMP-2 s-a situat la un nivel redus spre moderat, cu un scor proporțional mediu de $0,85 \pm 0,7$, scor de intensitate de $0,97 \pm 0,8$ și scor total mediu de $1,42 \pm 1,4$. Deși unele cazuri au atins scoruri mai mari (scor total maxim de 4), valorile mediane și intervalele intercuartile (IIQ: 0–3,0) indică o variabilitate crescută și o exprimare limitată în majoritatea cazurilor.

Spre deosebire de MMP-1 și MMP-2, expresia MMP-9 a fost semnificativ crescută. Scorul proporțional mediu a fost de $3,63 \pm 0,8$, cu o medie a intensității colorației de $2,21 \pm 0,7$, rezultând un scor total mediu de $5,84 \pm 1,2$. Valorile mediane ridicate (Md = 6,0) și intervalul intercuartilic (IIQ: 5,0–7,0) sugerează o expresie constantă și puternică a acestei metaloproteinaze, ceea ce poate reflecta un rol activ al MMP-9 în procesele de invazie tisulară asociate endometriozei extragenitale.

De asemenea, MMP-14 a prezentat niveluri de expresie comparabile cu MMP-9. Scorul proporțional mediu a fost de $3,49 \pm 0,8$, scorul intensității de $2,19 \pm 0,8$, iar scorul total mediu a atins valoarea de $5,67 \pm 1,2$. Mediana scorurilor totale a fost de 6,0, iar IIQ-ul (5,0–7,0) indică o exprimare robustă și constantă în leziunile analizate. Aceste date susțin implicarea MMP-14 în mecanismele de invazie și remodelare tisulară ale endometriozei în afara sistemului genital (Figura 16).

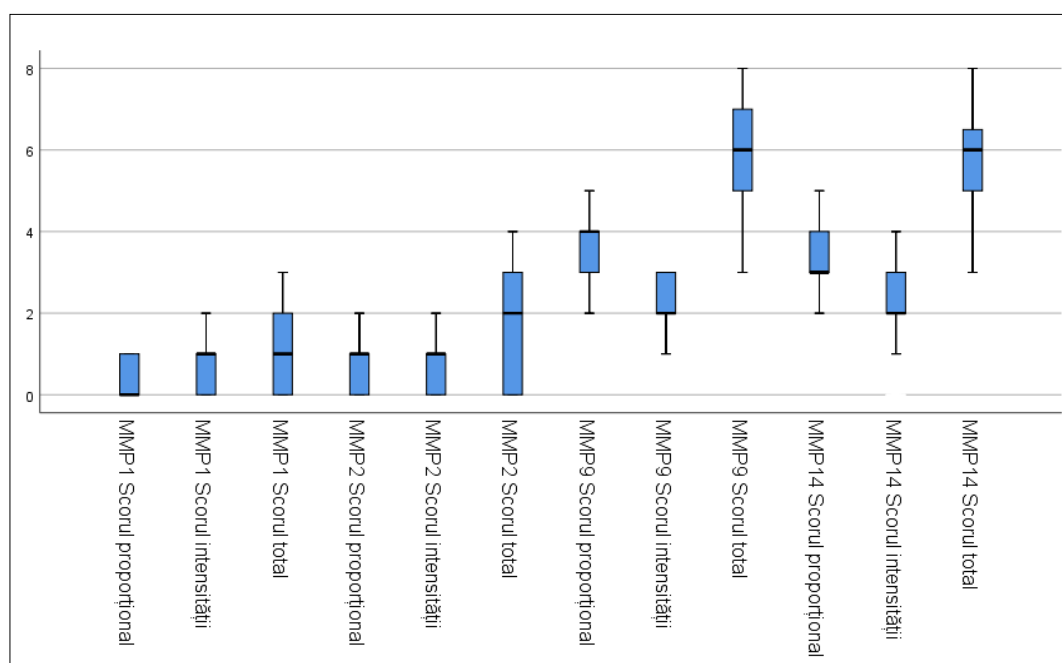


Figura 16. Valorile medii ale expresiei markerilor implicați în remodelarea matricei extracelulare la pacientele cu endometrioză extragenitală

Expresia ridicată a MMP-9 și MMP-14, în contrast cu nivelurile scăzute de MMP-1 și MMP-2, conturează un profil invaziv selectiv, specific leziunilor de endometrioză extragenitală, cu activare preferențială a anumitor metaloproteinaze. Acest pattern imunohistochimic ar putea avea valoare predictivă în aprecierea comportamentului biologic al leziunilor endometriozeice.

Imunoreacția pentru MMP-1 a fost slab pozitivă (1+) în toate cazurile de endometrul normal. Am constatat că intensitatea crescută a reacției pentru MMP-1 a fost prezentă doar la nivelul elementelor stromale. Analiza intensității MMP-1 în raport cu scorul total imunohistochimic a indicat diferențe semnificative ($p=0,006$). Cu toate acestea am constatat o asocieră a intensității crescute a marcajelor cu scorul total IHC scăzut.

Expresia MMP-2, MMP-9, MMP-14 a fost identificată în toate cazurile investigate atât în endometrioză, cât și în endometrul normal. Colorarea pentru MMP-2 a avut intensitate predominant scăzută în celulele stromale la nivel citoplasmatic din leziunile endometriozeice și în endometrul eutopic. Am constatat

intensitate crescută a reacției pentru MMP-9 la nivel citoplasmatic stromal în endometrioză, pe când în endometrul normal aceasta a fost absentă. Intensitatea imunoexpresiei MMP-14 a fost crescută citoplasmatic la nivelul stromei în endometrioză și moderată în endometrul normal. Expresia MMP-1 a fost absentă atât în specișenele de endometrioză extragenitală și slab pozitivă (1+) în endometrul normal.

Este important de menționat **rolul axului SDF-1/CXCR-4**, având în vedere implicarea sa clară în procesele de invazie și metastazare a multor neoplasme maligne umane.

La nivelul focarelor de endometrioză cât și în endometrul normal reactivitatea pentru CXCR-4 a fost absentă la nivelul glandelor și scăzută la nivelul celulelor inflamatorii din stroma endometriozei. În cazurile de endometrioză de la nivelul colonului, rectului, hernie inghinală, peretelui abdominal anterior a fost consemnată o reactivitate slabă la nivelul infiltratelor inflamatorii. La nivelul focarelor cu endometrioză, la nivelul stromei am înregistrat reactivitatea pentru CXCR-4 în toate aceste cazuri investigate ceea ce constituie (27,90%), dar scorul intensității IS a fost scăzut (1+), valoarea medie IS a fost de 1 (Figura 17).

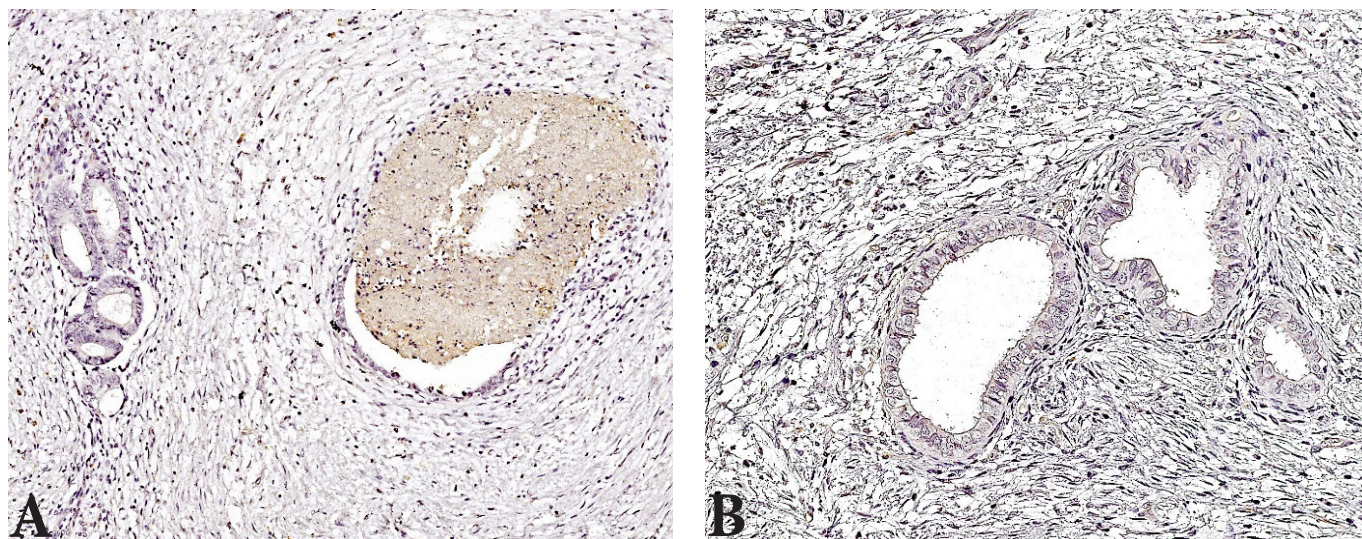


Figura 17. **Expresia receptorului CXCR-4 în endometrioza extragenitală și la nivelul endometrului normal.** A – cicatrice după operația cezariană. B – endometrioza colonică. Expresie negativă (scor 0).

Colorație IHC-DAB, $\times 200$

Reactivitatea pentru CXCR-4 a fost mai pronunțată în cazurile cu inflamație cronică, fiind prezentă la acest nivel, în timp ce în celelalte cazuri de endometrioză, reacția a fost absentă.

Reactivitatea pentru SDF-1 au fost prezentă în celulele stromale din leziunile de endometrioză cu pattern de imunocolorare citoplasmatic și mai rar membranar. La nivelul endometrului normal reacția a fost absentă. În 40 de cazuri am înregistrat o reactivitate pentru SDF-1 ceea ce constituie (93,02%), dar scorurile intensității IS au variat între 1 și 3, iar valoarea medie IS a fost de $1,37 \pm 0,6$. Expresia markerului SDF-1 în focarele de endometrioză au fost semnificativ mai mari decât în țesuturile endometriale normale ($p=0,005$), iar diferențele au fost semnificative statistic ($p=0,021$) (Figura 18).

Evaluarea imunohistochimică a expresiei axei chemokinice SDF-1/CXCR-4, cunoscută pentru rolul său în migrarea celulară, angieneză și potențialul metastatic al celulelor în diverse patologii, inclusiv în endometrioză (Figura 19).

Markerul SDF-1 a prezentat un nivel de exprimare scăzut spre moderat. Scorul proporțional mediu a fost de $1,56 \pm 0,9$, cu o valoare mediană (Md) de 1,0 și un interval intercuartilic (IIQ) cuprins între 1,0 și 2,0. Intensitatea medie a reacției imunohistochimice a fost de $1,37 \pm 0,6$, indicând o colorație slabă până la moderată în majoritatea cazurilor. Scorul total mediu pentru SDF-1 a fost de $2,93 \pm 1,0$, cu o mediană de 3,0 și IIQ de 2,0–4,0.

Aceste date sugerează o prezență relativ modestă a SDF-1 în leziunile investigate, cu variații între cazuri, dar fără a indica o activare intensă și generalizată a acestui factor chemotactic.

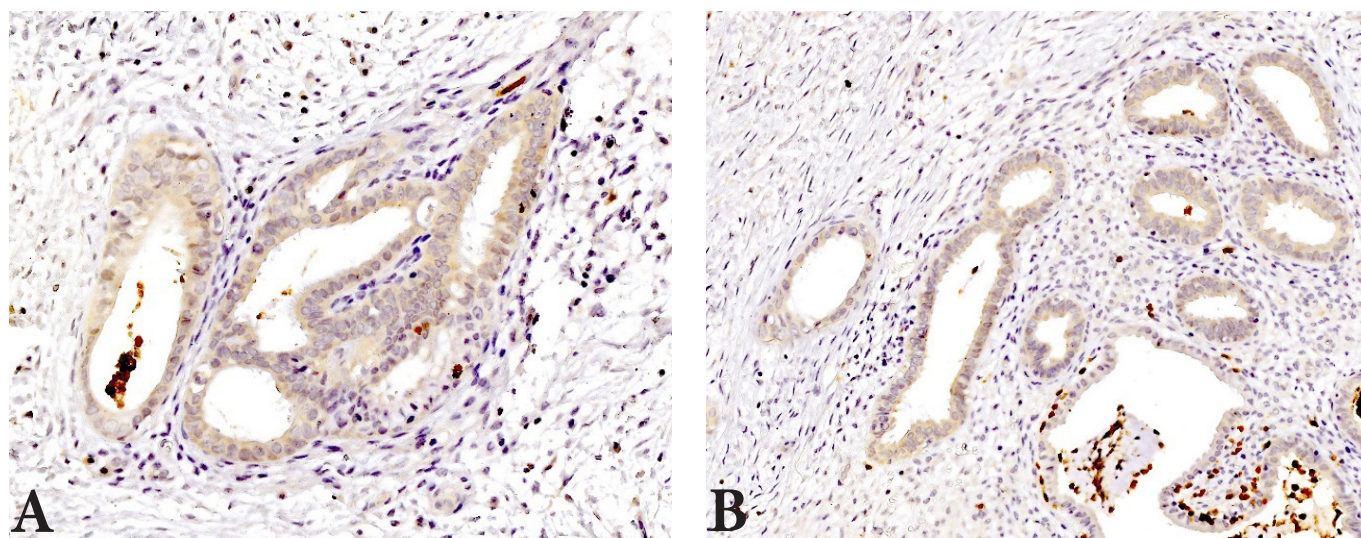


Figura 18. **Expresia factorului SDF-1 derivat din celule stromale în endometrioza extragenitală și la nivelul endometrului normal.** A – endometrioza cicatricii post-cezariene. Reacție de intensitate scăzută (scor 1+) la nivelul stromei. Colorație IHC-DAB, $\times 200$

În schimb, expresia receptorului său specific, CXCR-4, a fost mai pronunțată, ceea ce poate indica o sensibilitate crescută a celulelor endometrioze la semnalizarea prin această axă. Scorul proporțional mediu pentru CXCR-4 a fost de $2,58 \pm 1,1$, cu o mediană de 2,0 și IIQ între 2,0–3,0, sugerând că o proporție semnificativă de celule exprimă acest receptor. Intensitatea medie a colorației a fost de $1,95 \pm 0,8$, iar scorul total mediu a atins valoarea de $4,56 \pm 1,6$, cu o mediană de 4,0 și IIQ între 3,0–6,0. Aceste rezultate indică o activare medie spre înaltă a receptorului CXCR-4 în leziunile extragenitale de endometrioza, ceea ce poate reflecta un potențial crescut de migrare celulară și posibile mecanisme similare cu cele implicate în invazia tumorală.

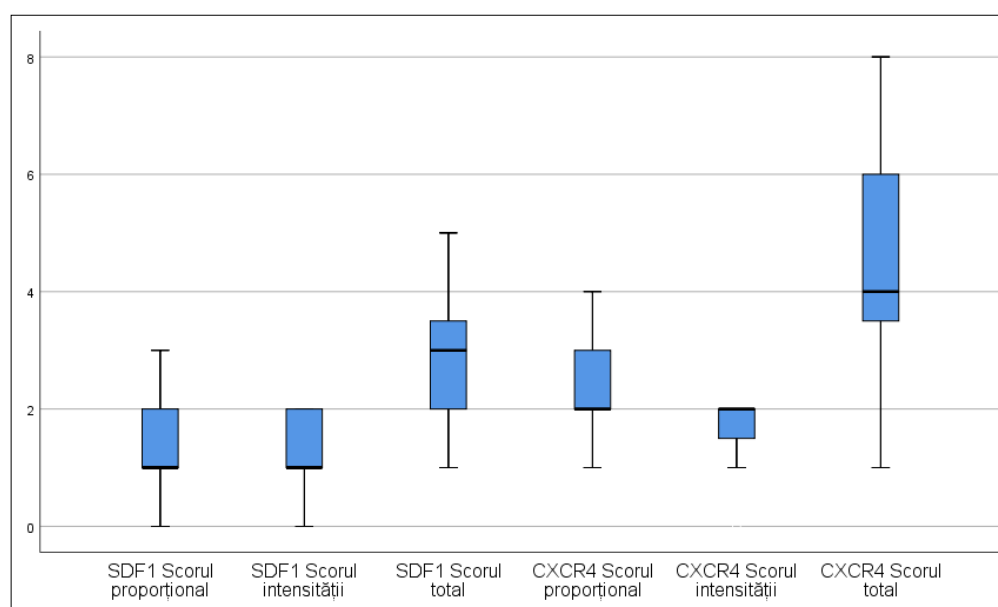


Figura 19. **Valorile medii ale scorurilor expresiei SDF-1 și CXCR-4 la pacienții cu endometrioza extragenitală**

Astfel, pe de o parte putem confirma mecanismul de implantare în locurile ectopice a celulelor endometriale pentru niveluri ridicate ale expresiei SDF-1 în aceste țesuturi, iar pe de altă parte putem susține potențialul invaziv scăzut al leziunilor de endometrioza din regiunea retroperitoneală și vezica urinară.

Ambii markeri au fost mult mai intens exprimați în leziunile de endometrioza extragenitală ce prezin-

tă un răspuns inflamator cronic. Factorul SDF-1 și receptorul său CXCR-4 au un rol major în patogeneza endometriozei cu un potențial moderat în procesul de invazivitate locală prin promovarea proliferării celulelor stromale endometriale.

Evaluarea imunohistochimică a markerilor specifici tranziției epitelio-mezenchimale (panelul E-cadherina/Vimentina, N-cadherina, TWIST). La nivelul focarelor de endometrioză, reactivitatea pentru E-cadherină/Vimentină a fost heterogenă, cu pattern atât citoplasmatic, cât și membranar. Per total, reactivitatea ($IS = 6,44 \pm 0,9$) a fost ceva mai mică. Diferențe de reactivitate au fost observate și în funcție de localizarea procesului. Endometrioza peretelui abdominal anterior a prezentat maximum de reactivitate ($IS = 9 \pm 1,6$), pattern-ul reacțiilor fiind atât membranar, cât și citoplasmatic. E-cadherina a prezentat o colorație membranară la nivelul celulelor epiteliale pe când Vimentina citoplasmatică. Intensitatea colorației a fost moderată în 58,14% ce constituie 25 cazuri și puternică în 18 cazuri 41,86%. Procentul celulelor pozitive a fost $\geq 50\%$ în majoritatea cazurilor 34 ce constituie (79,06%). În lotul investigat, toate cazurile au prezentat imunoexpresie pozitivă pentru E-cadherină/Vimentină, cu valori ale scorului cuprinse între 6 și 9.

E-cadherina a prezentat o colorare membranară de intensitate înaltă la nivelul celulelor epiteliale glandulare atât în endometrioza extragenitală, cât și în endometrul normal.

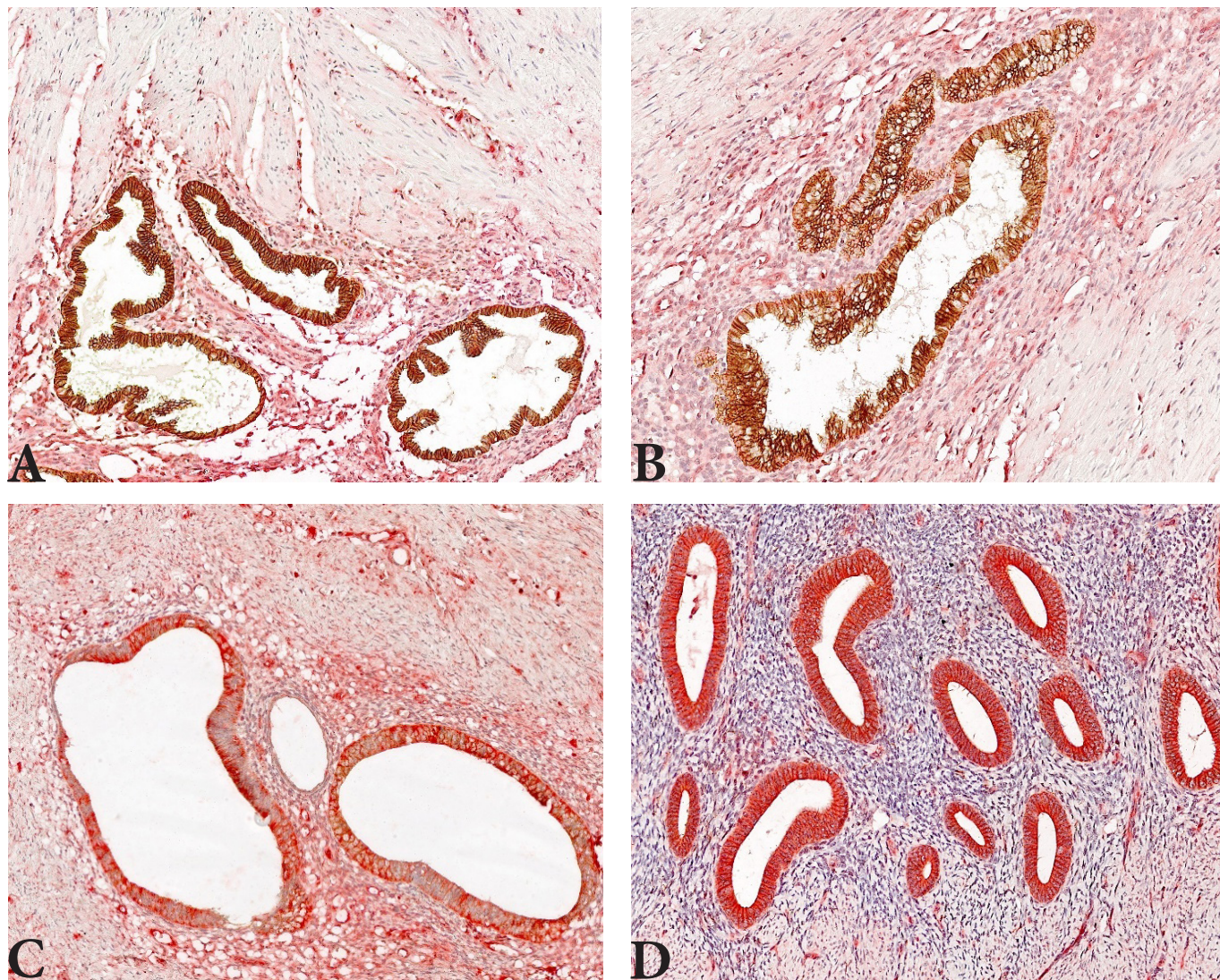


Figura 20. Imunoexpresia markerilor E-cadherină/Vimentină în endometrioza extragenitală și la nivelul endometrului normal. A – la nivelul colonului. Reacție de intensitate înaltă (scor 3+) la nivelul glandelor endometriale. B – la nivelul rectului. Reacție de intensitate înaltă (scor 3+) la nivelul glandelor endometriale. C – peretele abdominal anterior după operație cezariană. Reacție de intensitate moderată (scor 2+) la nivelul glandelor endometriale și la nivelul stromei. D – endometrul normal. Reacție de intensitate moderată (scor 2+) la nivelul glandelor endometriale. Colorație IHC-DAB, imaginile A, B, C, D $\times 200$

În cazurile cu endometrul normal, toate cazurile au avut valori de scor cuprinse între 2 și 6, expresia E-cadherină/Vimentină fiind considerată negativă. Intensitatea colorației a fost slabă în 30 (69,76%) din cazuri și moderată în 9 (20,93%) din cazuri. Procentul celulelor pozitive a fost <40% în majoritatea cazurilor 25 (58,13%). Șase cazuri au prezentat un procent foarte scăzut (<10%) de celule tumorale E-cadherină/Vimentină pozitive (Figura 20).

Testele imunohistochimice pentru identificarea epiteliului glandular, receptorilor hormonal, proliferației tisulare, dar și cele pentru identificarea proteinelor tumorale, a vascularizației și a celulelor inflamatorii au stat la baza diagnosticării endometriozei cu diferite localizări.

Intensitatea pentru N-cadherină am observat-o numai în 11 (25,0%) din totalul cazurilor investigate. Analiza semicantitativă a imunomarcajului în cazurile cu endometrioză a evidențiat următoarele scoruri: $0,65 \pm 0,5$ pentru scorul proporțional, $0,73 \pm 0,5$ pentru scorul intensității și $0,98 \pm 0,7$ pentru scorul total (Figura 21).

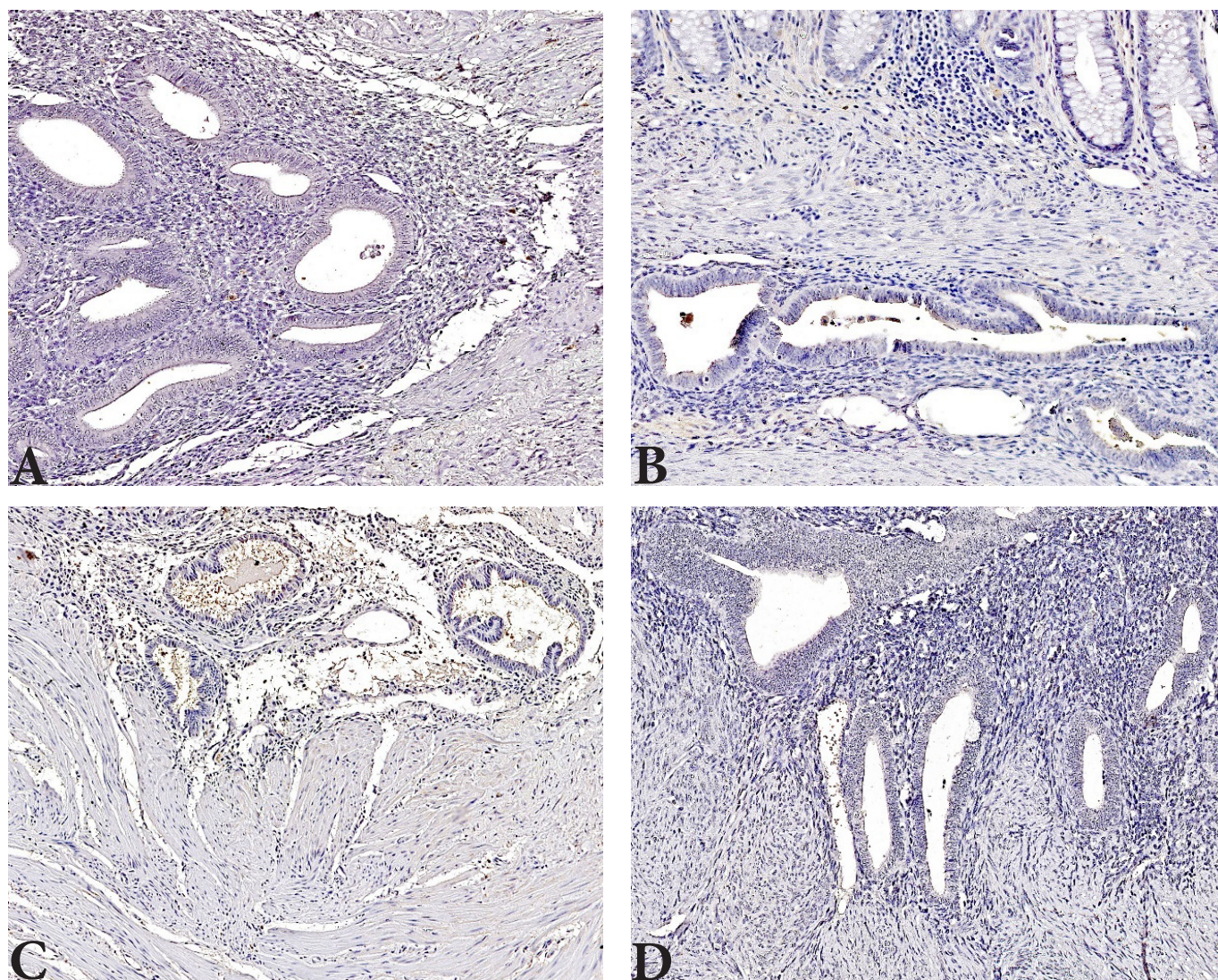


Figura 21. **Imunoexpresia markerilor N-cadherină în endometrioză și la nivelul endometrului normal.** A – endometrioza la nivelul colonului. B – endometrioza la nivelul rectului. C – endometrioza pe peretelui abdominal anterior după operația cezariană. D – endometrul normal. Reacții negative (scor 0) la nivelul glandelor endometriale și stromei. Colorație IHC-DAB, imaginile A, B, C, D $\times 200$

Dintre toți factorii transcripționali inductori ai tranziției epitelio-mezenchimale studiați de noi, TWIST a fost cel mai slab exprimat în țesutul endometrial, având un scor mediu de imunoreactivitate pe toate cazurile investigate de $0,86 \pm 0,7$. Reactivitatea a fost mult mai evidentă la nivelul glandelor în endometrioza pe cicatrice după operația cezariană.

Indiferent de topografie, cazurile cu endometrioza peretelui abdominal anterior a fost cea mai reactivă pentru TWIST, cu pattern subcelular mixt, citoplasmatic și nuclear, predominant fiind cel nuclear.

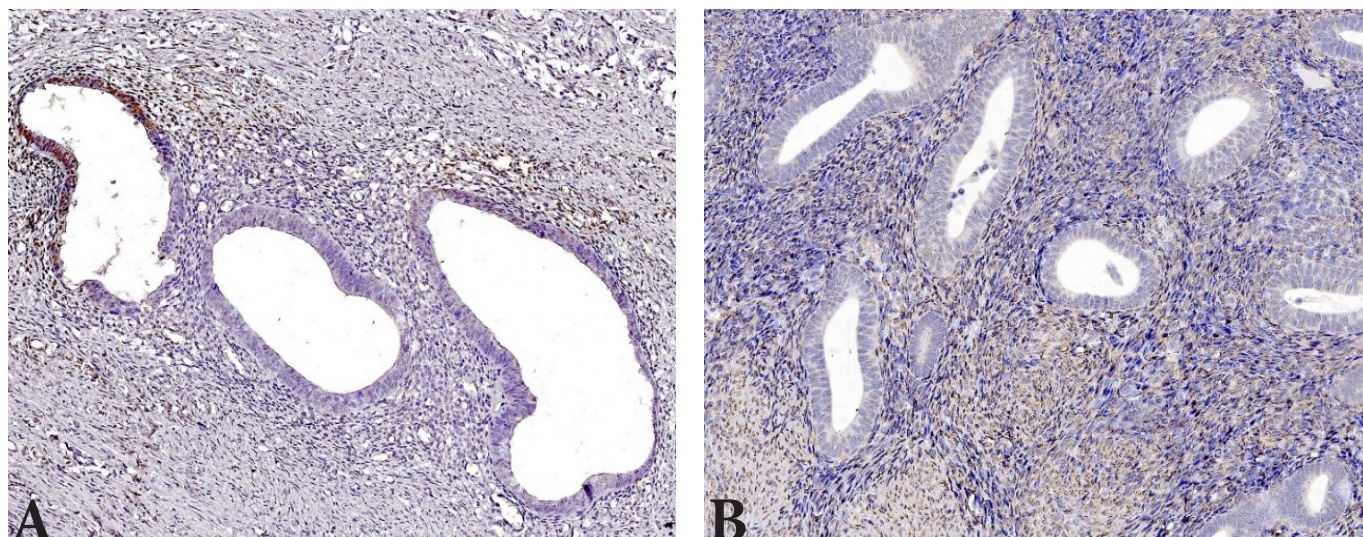


Figura 22. **Imunoexpresia markerului TWIST în endometrioză și la nivelul endometrului normal.**

A – endometrioza granulomului de sutură. Reacție de intensitate scăzută (1+). B – endometrul normal.

Reacția a fost negativă (scor 0). Colorație IHC-DAB, imaginile A, B $\times 400$

Pentru evaluarea proceselor celulare asociate tranziției epitelio-mezenchimale (EMT) în cadrul leziunilor de endometrioză extragenitală, a fost efectuată analiza imunohistochimică a unui panel specific de markeri, incluzând E-cadherina/Vimentina, N-cadherina și TWIST, cunoscuți pentru rolul lor în pierderea caracterelor epiteliale și dobândirea unui fenotip invaziv, de tip mezenchimal.

Expresia combinată a E-cadherinei și Vimentinei a fost ridicată, cu un scor proporțional mediu de $3,95 \pm 0,8$ și o valoare mediană (Md) de 4,0, în contextul unui interval intercuartilic (IIQ) între 3,0 și 5,0, ceea ce reflectă o proporție importantă de celule pozitive pentru acești markeri. Intensitatea colorației a fost moderat spre intensă ($2,49 \pm 0,6$), iar scorul total mediu a atins valoarea de $6,44 \pm 0,9$, cu majoritatea cazurilor încadrate în intervalul 6,0–7,0. Această expresie susținută indică menținerea parțială a caracterelor epiteliale (prin E-cadherină), dar și o activare a programului mezenchimal (prin Vimentină), reflectând un profil de tranziție epitelio-mezenchimală parțială, adesea întâlnit în leziunile endometrioze cu potențial invaziv.

În schimb, expresia N-cadherinei, marker specific fenotipului mezenchimal, a fost semnificativ mai redusă. Scorul proporțional mediu a fost de $0,65 \pm 0,5$, cu o mediană de 1,0, iar intensitatea medie a fost de $0,73 \pm 0,5$. Scorul total mediu de $0,98 \pm 0,7$ confirmă o expresie slabă a N-cadherinei în majoritatea cazurilor, sugerând că tranziția completă către un fenotip mezenchimal nu este pe deplin activată în aceste leziuni.

Similar, expresia factorului de transcripție TWIST, un regulator-cheie al EMT, a fost minimă. Scorul proporțional mediu a fost de $0,46 \pm 0,4$, iar scorul de intensitate a avut o valoare medie de $0,60 \pm 0,5$. Scorul total mediu s-a situat la $0,86 \pm 0,7$, cu majoritatea valorilor concentrate în intervalul 0–1,0. Aceste rezultate indică o activare slabă a programului molecular EMT la nivelul transcripțional, sugerând că mecanismele de tranziție epitelio-mezenchimală în endometrioza extragenitală pot fi prezente într-o formă incompletă sau parțial reglată.

Ansamblul acestor date conturează un profil EMT parțial, caracterizat prin coexpresia E-cadherinei și Vimentinei, dar în absența unei supraexprimări semnificative a markerilor mezenchimali canonici N-cadherină și TWIST. Acest tipar poate reflecta o capacitate limitată de invazivitate și migrare, specifică endometriozei cu localizare extragenitală.

CONCLUZII GENERALE

1. Examinarea histopatologică a biopsiilor și a materialului postoperator este considerată cea mai adecvată metodă pentru diagnosticarea endometriozei. Această patologie este caracterizată prin prezența glandelor și stromei endometriale, însoțite de inflamație cronică, fibroză, hemoragie veche sau recentă și hemosiderofage.
2. Focarele endometrioze imunohistochemic se caracterizează printr-o expresie crescută a receptorilor pentru estrogen (ER) în celulele stromale, mai intensă comparativ cu endometrul intact, fapt, care potențează extinderea procesului.
3. Metaloproteinaza dependentă de zinc (CD10) este intens exprimată de celulele stromale din focarele ectopice, fapt ce indică utilizarea acesteia în calitate de marker specific de diagnostic al endometriozei.
4. Diminuarea expresiei E-cadherinei și sporirea N-cadherinei indică prezența în focarele de endometrioză a procesului de tranziție epitelio-mezenchimală. Existența acestuia este susținută și de supraexpresia markerului TWIST în celulele stromale ale focarelor ectopice.
5. În endometrioză, indiferent de localizarea procesului, se atestă supraexpresia metaloproteinazelor matriceale (MMp2, MMP9 și MMp14) ceea ce poate facilita invazia și extinderea procesului.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Pentru diagnosticul endometriozei extragenitale recomandăm evaluarea imunohistochemică a expresiei markerului stromal CD10 și receptorilor hormonal (ER, PR) în endometrul ectopic.
2. Pentru aprecierea potențialului de invazivitate a procesului ectopic recomandăm evaluarea prin dublă imunocolorare pentru E-cadherină/Vimentină.
3. În calitate de ținte terapeutice în tratamentul endometriozei recomandăm evaluarea expresiei receptorului CXCR-4 și factorului de transcripție TWIST.
4. Recomandăm utilizarea următoarelor teste suplimentare de diagnostic al endometriozei: evaluarea conținutului seric al ER, metaloproteinazelor matriceale și CXCR-4.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Ananias, P., Joao, P. M., Arunima, M. J., Yaqub, S., Turkistani, A., Shah, A., Lubna, M. Cesarean section: A Potential and Forgotten risk abdominal wall endometriosis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2021, 13(8), 1-9.
2. Cazacu E, Zota E, Mărgăritescu C, Niguleanu R, Pretula R. Immunoexpression of matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-2, MMP-9 and MMP-14 in extragenital endometriosis and eutopic endometrium. *Mold Med J*. 2020; 63(4): 6-11.
3. Казаку Е, Зота Е, Варданян М, Нигуляну Р, Претула Р, Асатунова А и др. Особенности эпителиально-мезенхимального перехода в эктопическом эндометрии у пациенток с экстрагенитальным эндометриозом различной локализации. *Гинекология*. 2024; 26(2): 159-164.
4. Collette, T., et al. (2006). Evidence for matrix metalloproteinase-9 expression and activation in endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2006; 86(6): 1543–1551. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.03.057>
5. *Endometriosis. Guideline of European Society of Human Reproduction and Embryology*. ESHRE Endometriosis Guideline Development Group, 2022. 192 p.
6. Gaetje, R., et al. Characterization of endometriosis-associated cells in vitro by cytoskeleton proteins and adhesion molecules. *Microscopy Research and Technique*. 1997; 38(5): 467–476.
7. Ghidirim G, Mișin I, Rojnoveanu G, Vozian M, Mișina A, Revencu S et al. Appendiceal mucocoele due to endometriosis: a case report and literature review. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2015; (4): 43-47.
8. Mișina A, Șor E, Șcerbatiuc-Condur C, Gheorghita V, Mișin I. Endometrioma of the anterior abdominal wall after caesarean delivery. *Journal of Surgery*. 2023; 19(2): 150-156.
9. Smolarz B, Szyłło K, Romanowicz H. Endometriosis: Epidemiology, Classification, Pathogenesis, Treatment and Genetics (Review of Literature). *Int J Mol Sci*. 2021; 22(19): 10554.
10. Vincent, K., & Giudice, L. C. Endometriosis: mechanisms of pain and subfertility. *Nature Reviews Endocrinology*. 2010; 6(5): 261–275.
11. Wang Y, Nicholes K, Shih I. The Origin and Pathogenesis of Endometriosis. *Annu Rev Pathol*. 2020; 15: 71-95.
12. Xin L, Hou Q, Xiong Q, Ding X. Association between matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 polymorphisms and endometriosis: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep*. 2015; 3(4): 559-565.
13. Yang, Y. M., & Yang, W. X. Epithelial-to-mesenchymal transition in the development of endometriosis. *Molecular Human Reproduction*. 2017; 23(8): 484–491. <https://doi.org/10.1093/molehr/gax026>
14. Zaharia S, Mișina A, Mișin I. Endometrioza cicatricei postoperatorii complicată cu hemoragie externă: prezentare de caz. *MJHS*. 2018; 15(1): 93-101.
15. Zhang, T., et al. The link between immunity, autoimmunity and endometriosis: a literature update. *Autoimmunity Reviews*. 2021; 20(1): 102743. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102743>
16. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/endometriosis>
17. <https://endometriosis.org>

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

- **Articole în reviste științifice peste hotare:**

- ✓ **articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale***

1. **Казаку Е.**, Зота Е., Варданян М.А., Нигуляну Р., Претула Р., Асатурова А.В., Ежова Л.С., Бадлаева А.С. Особенности эпителиально-мезенхимального перехода в эктопическом эндометрии у пациенток с экстрагенитальным эндометриозом различной локализации. In: *Гинекология*. 2024;26(2):159-164. <https://doi.org/10.26442/20795696.2024.2.202799>
2. Чупрынин В.Д., Буралкина Н.А., Варданян М.А., **Казаку Е.В.**, Претула Р.В. Эндометриоз передней брюшной стенки и рубца после кесарева сечения: два клинических случая. Медицинский оппонент 2024; 24(4):13-17. ISSN 2713-0444 (online).

- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

- ✓ **articole în reviste de categoria B**

3. **Cazacu E.**, Zota Er., Mărgăritescu Cl. Procesul de tranziție epitelio-mezenchimală în endometrioza extragenitală. In: *Sănătate publică, Economie și Management în Medicină*. 2019; 2(80): 66-70. ISSN 1729-8687.
4. **Cazacu E.**, Zota Er., Mărgăritescu Cl., Niguleanu R., Pretula R. Immunoexpression of matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-2, MMP-9 and MMP-14 in extragenital endometriosis and eutopic endometrium. *Moldovan Medical Journal*. 2020; 4(63): 6-11. ISSN 2537-6381.
5. **Cazacu E.**, Zota Er., Mărgăritescu Cl. Particularități histopatologice și evaluarea imunohistochimică a procesului de invazivitate în endometrioza extragenitală. *Akademos*. 2025; 1(76): 68-76. E-ISSN 2587- 3687. <https://doi.org/10.52673/18570461>

- **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale și internaționale**

6. **Cazacu E.**, Zota Er., Margaritescu Cl. Peculiarities of extragenital endometriosis. În: *The 14th National Symposium of Microscopic Morphology with international participation Romania, Tîrgu Mureș*; 2016, pp. 24.
7. **Cazacu E.**, Zota Er. Study of epitelio-mesenchymal transition process in the pathogenesis of extragenital endometriosis. În: *Annual Scientific Conference of Scientific staff – teachers, PhD, master, residents and students Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova, Chișinău*; 2017.
8. **Cazacu E.**, Zota Er., Margaritescu Cl. Study of the epithelio-mesenchymal transition process in the pathogenesis of gastrointestinal tract endometriosis. În: *The 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors “MedEspera” Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova*: 2018, pp. 177.
9. **Cazacu E.**, Zota Er., Study of epithelio-mesenchymal transition process in the pathogenesis of extragenital endometriosis. În: *Annual Scientific Conference of Scientific staff – teachers, PhD, master, residents and students, Chișinău, Republic of Moldova*; 2018, p. 84.

10. **Cazacu E.** Role of matrix metalloproteinases in immunohistochemical assessment of the invasiveness potential of extragenital endometriosis. În: *The USCAP 108 Th Annual Meeting, National Harbor, Maryland, USA*; 2019, p. 31-32.
11. **Cazacu E., Zota Er., Vataman V., Pretula R.** Epithelio-mesenchymal transition process in the pathogenesis of gastrointestinal tract endometriosis. În: *Abstract Book. The 8 th International Medical Congres for Students and Young Doctors, Chişinău, Republic of Moldova*; 2020, pp. 248-249.
12. **Cazacu E., Zota Er., Margaritescu Cl., Niguleanu R., Pretula R.** Immunoexpression of matrix metalloproteinase MMP-1, MMP-2, MMP-9 and MMP-14 in extragenital endometriosis and eutopic endometrium. In: *The Moldovan Medical Journal. The 75th annyversary of Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova (1945-2020)*; 2020, pp. 6
13. **Cazacu E., Zota Er., Margaritescu Cl., Parnov M.** Imunoexpresia matrix metaloproteinazelor MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-14 în endometrioza extragenitală în comparație cu endometrul eutopic. În: *Al XVII-lea Simpozion Național al Societății Române de Morfologie, Craiova, România*; 2021, pp. 39.
14. **Cazacu E., Zota Er., Parnov M., Margaritescu Cl.** Expression an role of the SDF-1 factor and the CXCR4 receptor in the process of invasion from extragenital endometriosis. În: *Al XVIII-lea Simpozion Național al Societății Române de Morfologie, Craiova, România*; 2022, pp. 14.
15. **Cazacu E., Zota Er., Parnov M., Margaritescu Cl.** Investigation of the E-cadherin/N-cadherin-Vimentin/Twist profile in extragenital endometriosis. În: *Al XIX-lea Simpozion Național al Societății Române de Morfologie, Craiova, România*; 2024, pp. 64.
16. **Cazacu E., Zota Er., Margaritescu Cl.** Study of the epithelio-mesenchymal transition process in the pathogenesis of gastrointestinal tract endometriosis. *The 7^h International Medical Congress for Students and Young Doctors “MedEspera” Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova. Chişinău 3-5 May 2018.*
17. **Cazacu E.** Role of matrix metalloproteinases in immunohistochemical assessment of the invasiveness potential of extragenital endometriosis. *The USCAP 108 Th Annual Meeting, National Harbor, USA. Maryland 16-21 March 2019.*
18. **Cazacu E., Zota Er., Vataman V., Pretula R.** Epithelio-mesenchymal transition process in the pathogenesis of gastrointestinal tract endometriosis. *The 8 th International Medical Congres for Students and Young Doctors, Chişinău, Republic of Moldova, 7-9 May 2020.*

CAZACU Eugeniu

**STUDIUL HISTOLOGIC ȘI IMUNOHISTOCHIMIC
AL PROCESULUI DE INVAZIVITATE
DIN ENDOMETRIOZA EXTRAGENITALĂ**

311.02 – ANATOMIA PATOLOGICĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: 16.04.2025

Hârtie 80gr/m². Tipar offset.

Coli de tipar: 1.92

Formatul hârtiei: 60x80 1/16

Tiraj: 75 ex.

Comanda nr. 11

Tipografia: **ÎI „Covalciuc Maria”**
Chișinău, Str. Vl. Korolenko 61/3
Tel.: (+373 68) 04 45 10