

Importanța testelor imunohistochimice în diagnosticul pozitiv al leziunilor epiteliale preneoplazice și neoplazice endometriale

The importance of immunohistochemical tests in the positive diagnosis of preneoplastic and neoplastic endometrial epithelial lesions

Maria Comănescu^{1,2,3},
Anca Gabriela Potecă^{1,2},
Alexandru Comănescu⁴,
Teodor Potecă¹,
Mihai Mitran^{1,2}

1. UMF „Carol Davila”
București, România
2. Spitalul Clinic
de Obstetrică-Ginecologie
„Prof. Dr. Panait Sîrbu”
București, România
3. Departamentul
de Patologie,
Institutul Național
„Victor Babeș”,
București, România
4. Departamentul
de Obstetrică-Ginecologie,
UMF Craiova, România

Correspondență:
Dr. Anca Potecă
e-mail: anca_iag@
yahoo.com

Abstract

Endometrial malignant neoplasms are one of the most common lesions of the female reproductive tract, new cases being described each year. Both precursor endometrial lesions and endometrial malignant neoplasms are associated with numerous risk factors such as obesity, diabetes, hypertension and estrogenic hyperstimulation. Besides the rather difficult problem of the differential diagnosis between hyperplasia and endometrial carcinoma, the important relationship between the two classes of entities is given by the progression of endometrial hyperplasia to carcinoma and triggering molecular mechanisms. Endometrial cancer is represented by tumors with good prognosis and treatment response and by very aggressive tumors that are a major contributor to the increase in deaths from uterine cancer. Currently we are trying to integrate the histopathologic appearance of endometrial cancer with the pathogenic mechanisms to identify new and clinically important prognostic factors. This study has identified precursor lesions and endometrial carcinoma by analyzing an extensive casuistry on clinical, histopathological and immunohistochemical criteria, according to current concepts. The aim of the study was to create a characteristic profile, depending on clinical, histopathological and biomolecular factors with further therapeutic utility in modulating attitude and stratifying the risk of premalignant and malignant endometrial lesions and identifying the population group prone to developing these disorders. **Keywords:** endometrial hyperplasia, adenocarcinoma, hormone receptors, prognostic

Rezumat

Neoplaziile maligne endometriale reprezintă una dintre cele mai frecvente leziuni ale tractului reproducător feminin, cazuri noi fiind descrise în fiecare an. Atât leziunile precursoare endometriale, cât și neoplaziile maligne endometriale sunt asociate cu numeroși factori de risc cum ar fi obezitatea, diabetul, hipertensiunea și hiperstimularea estrogenică. Pe lângă problemele destul de dificile de diagnostic diferențial între hiperplazie și carcinomul de endometru, relația importantă între cele două clase de entități este dată de progresia hiperplaziei endometriale către carcinom și de mecanismele moleculare declanșatoare. Cancerul endometrial este reprezentat atât de tumori cu răspuns terapeutic și prognostic bun, cât și de tumori mai puțin frecvente, care pot fi foarte agresive și care contribuie major la creșterea ratei de decese prin cancer uterin. În prezent se dorește integrarea aspectului histopatologic al cancerului endometrial cu mecanismele patogenice pentru a identifica noi elemente cu importanță clinică și prognostică. Studiul de față a identificat leziunile precursoare și carcinoamele endometriale prin analiza unei cazuistici extinse, cu caracterizarea acestora pe criterii clinice, histopatologice și imunohistochimice conform conceptelor actuale. S-a încercat crearea unui profil caracteristic în funcție de aspectele clinice, histopatologice și biomoleculare cu utilitate în modularea atitudinii terapeutice ulterioare, precum și stratificarea riscului de apariție a leziunilor premaligne și maligne endometriale, cu stabilirea unor grupe populaționale predispușe sau nu la dezvoltarea acestor afecțiuni. **Cuvinte-cheie:** endometru, hiperplazie, adenocarcinom, receptori hormonal, prognostic

Introducere

Cancerul endometrial reprezintă o entitate heterogenă, cu comportament biologic extrem de diferit și, prin urmare, creează necesitatea unui tratament individualizat. Carcinomul endometrial se dezvoltă ca urmare a unei acumulări de alterări ale căilor de reglare celulară, cum ar fi activarea oncogenelor și inactivarea genelor supresoare tumorale, care duce la modificări în creșterea celulară. Unele dintre aceste modificări moleculare par a fi mai specifice în tipul I, iar altele în tipul II de carcinom endometrial (Doll A., 2008).

Carcinomul endometrial se dezvoltă din modificările de la nivelul epiteliului endometrial de suprafață. Ambele tipuri de cancer endometrial (endometrioid și nonendometrioid) au leziuni precursoare potențial precanceroase, a căror detectare ar putea fi utilă în deciziile de diagnostic și tratament.

Existența leziunilor precursoare endometriale a fost recunoscută de mult timp, dar folosirea unor terminologii și a unor clasificări diferite de-a lungul timpului a făcut ca reproductibilitatea rezultatelor să fie destul de scăzută și există încă multe controverse privind potențialul acestora de evoluție spre malignitate.

Adenocarcinomul endometrial reprezintă cea mai frecventă malignitate a tractului genital feminin în țările în care eficiența programelor de screening pentru carcinomul cervical a dus la scăderea incidenței acestei neoplazii.

Clinicobiologic, există două tipuri distincte: 80% dintre adenocarcinoamele endometriale sunt de tip I, endometrioid (estrogenodependente), restul fiind estrogenindependente, de tip II - carcinomul seros și cel cu celule clare. Tipul I apare la vârste mai mici, se asociază de obicei cu leziuni de hiperplazie, are prognostic mai bun și exprimă receptori de estrogen și progesteron, în timp ce tipul II apare pe endometru atrofice, are prognostic rezervat și de obicei nu are receptori pentru estrogen și progesteron (Zaino R.J., 2003, Feeley K.M., 2001).

Cu toate acestea, chiar și pentru modificările endometriale cunoscute a prezenta risc de progresie către adenocarcinom, definirea histologică, precum și gradul lor de risc, este încă subiect de controversă. În prezent, în concordanță cu modelul dualist de tumorigeneză endometrială, se presupune că există, de asemenea, două tipuri diferite de leziuni precanceroase endometriale (Yi X., 2008). Modificările moleculare din cele două tipuri majore de adenocarcinom endometrial sunt semnificativ diferite, aceasta sugerând că apar ca urmare a unor factori

diferiți, urmând căi specifice de inițiere și progresie a carcinogenezei.

Astăzi se consideră că doar leziunile hiperplazice cu atipii sunt precursorii adenocarcinomului endometrial, carcinogeneza urmând obligatoriu secvența hiperplazie endometrială indusă hormonal - hiperplazie atipică - carcinom endometrial.

Există multiple modalități de investigare a endometrului, dar obținerea de material biopsic și evaluarea prin examen histopatologic reprezintă „gold-standardul” pentru depistarea leziunilor precursoare și a carcinomului endometrial. În prezent, biopsia endometrială reprezintă cea mai folosită metodă pentru prelevarea endometrului, iar evaluarea histologică este standardul pentru evaluarea leziunilor precursoare ale carcinomului endometrial (Walker J.L., 1999).

Evaluarea complexă a alterărilor care apar la nivel biomolecular și a implicațiilor acestora în reglarea creșterii tumorale și apoptozei, precum și stabilirea unor factori cu rol în progresia tumorală pot constitui fundamentul dezvoltării unor noi strategii terapeutice în leziunile premaligne și maligne ale endometrului țintite pe bazele moleculare ale procesului carcinogenetic.

Material și metodă

Lotul de studiu a fost reprezentat atât de biopsii și chiuretaje endometriale, cât și de piesele operatorii - histerectomii.

Datele au fost colectate din foile de observație clinică și rapoartele histopatologice ale pacientelor: vârsta, statusul reproductiv, motivele recoltării biopsiei/chiuretajului sau ale histerectomiei, alte antecedente ginecologice, diagnosticul histopatologic, alte leziuni asociate etc. Analiza și interpretarea statistică a datelor a fost realizată cu ajutorul programului de statistică **IBM Statistics, versiunea 19**.

Secțiunile histologice au fost marcate utilizând colorația standard hematoxilină eozină. Reacțiile imunohistochemice s-au realizat pe secțiunile de 4 microni obținute din blocurile incluse la parafină, care au fost întinse pe lame de sticlă pretratate cu polilizină. Rezultatele s-au vizualizat prin colorarea în brun cu ajutorul cromogenului diaminobenzidină (DAB). Reacția a apărut pozitivă la nivelul membranei, citoplasmei sau nucleului, în funcție de tipul de anticorp.

Panelul de anticorpi utilizați în studiul nostru este redat în tabelul 1.

Tabelul 1 Anticorpii utilizați în studiul imunohistochimic

Anticorp	Clonă	Diluția	Producător
ER	1D5	1:1000	Novocastra
PR	1A6	1:25	Novocastra
Ki67	MIB-1	1:50	Novocastra
P53	D07	1:50	Neomarkers

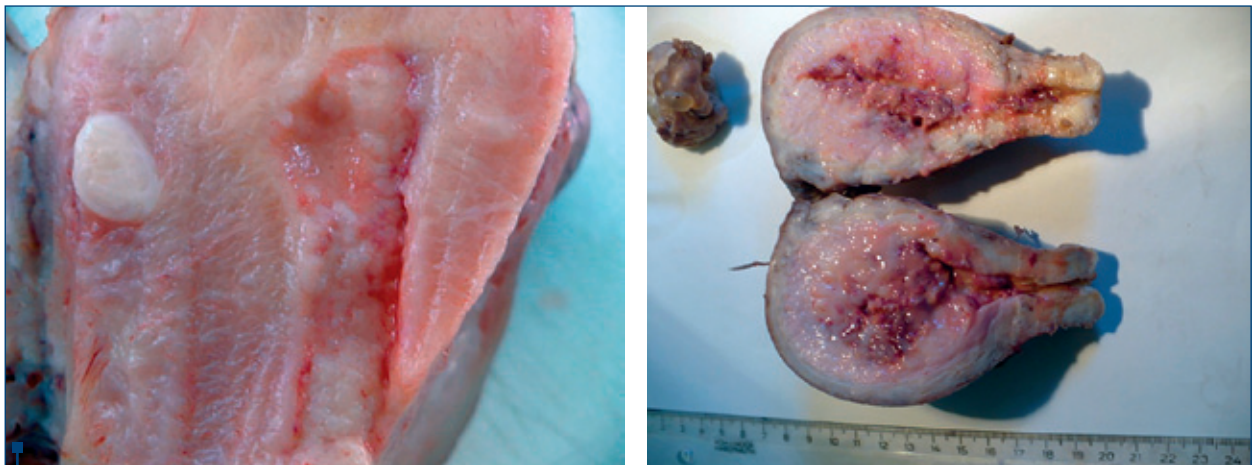


Figura 1. Hiperplazie de endometru (stânga) și adenocarcinom endometrial (dreapta) - aspect macroscopic

Rezultate

Studiul a fost realizat pe un lot de 560 de piese histopatologice reprezentate de prelevate biopsice și de rezecție chirurgicală care au fost diagnosticate cu leziuni endometriale de tip hiperplazie sau tumori maligne - 369 de blocuri de parafină cu fragmente tisulare obținute prin curetaj biopsic și 191 de blocuri de parafină obținute în urma intervenției chirurgicale de histerectomie.

Pacientele incluse în studiu au avut vârste cuprinse între 31 și 84 de ani, cu o medie de vârstă de 52,87 ani. Am remarcat o preponderență a pacientelor din grupa de vârstă 40-50 de ani, rezultând că femeile aflate în post-menopauză sunt cele mai afectate de o patologie endometrială. Ea a variat într-un interval mic, în funcție de subtipul de hiperplazie, având cea mai mică valoare în cazul hiperplaziei simple și complexe fără atipii și cea mai mare în cazul celei complexe cu atipii. În majoritatea cazurilor, intervenția chirurgicală a fost de tip histerectomie totală cu anexectomie bilaterală (174 de cazuri).

Lotul de paciente cu modificări de tip hiperplazie endometrială a fost alcătuit din 371 de cazuri - 289 de cazuri de hiperplazie fără atipii și 82 de cazuri de hiperplazie cu atipii. 28% din hiperplaziile atipice diagnosti-

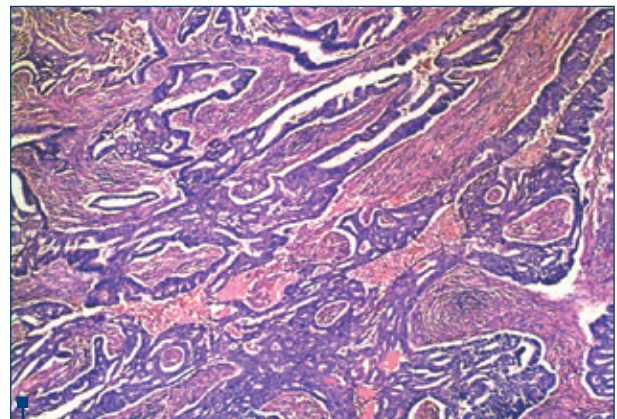


Figura 2. Adenocarcinom endometrial endometrioid moderat diferențiat, HE, obx4

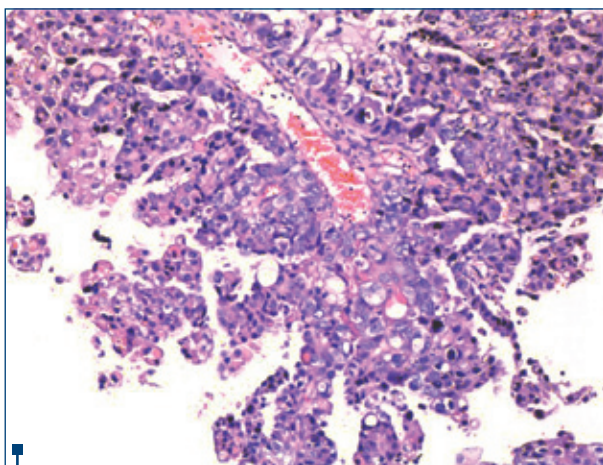


Figura 3. Carcinom seros endometrial, HE, obx10

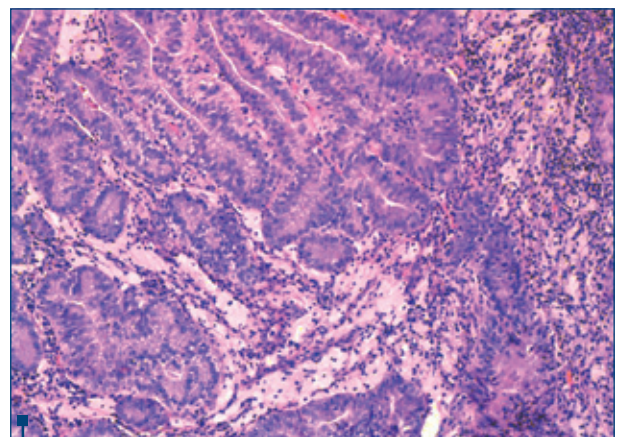


Figura 4. Adenocarcinom endometrial secretor și infiltrare stromală cu macrofage spumoase, HE, obx4

Tabelul 2 Stadializarea FIGO a carcinoamelor endometriale incluse în studiu

Stadiul FIGO	Număr de cazuri
IA	2
IB	75
IC	21
IIA	6
IIB	7
IIIA	1
IIIB	1

cate biopsic au prezentat ulterior adenocarcinom bine diferențiat, susținând astfel teoria existenței sincrone a leziunilor precursoare și franc maligne.

Cel mai frecvent simptom a fost reprezentat de sângerările vaginale anormale. Din punct de vedere macroscopic, hiperplaziile endometriale au fost caracterizate de prezența unui endometru îngroșat, peste 4 mm, iar carcinoamele endometriale au fost reprezentate de mase expansive, polipoide, friabile, cu arii de hemoragie și uneori necroză (figura 1)

În funcție de aspectele clinicopatologice, moleculare, imunohistochimice și genetice, carcinoamele endometriale se împart în două categorii majore: tipul I - endometrioid și respectiv tipul II - nonendometrioid, carcinomul seros și carcinomul cu celule clare. Carcinoamele endometrioide au fost caracterizate de prezența unor structuri glandulare, similare endometrului normal, dar care au prezentat diferite grade de diferențiere. Zonele glandulare au alternat în unele cazuri cu arii solide și arii cu pattern papilar.

În 178 de cazuri au fost identificate modificări de tip carcinom endometrial: 164 cu carcinom endometrial endometrioid sau tipul I (figura 2) și 14 cu carcinom endometrial nonendometrioid sau tipul II, dintre care 3 seroase, 3 cu celule clare, 7 mixte (4 cazuri de adenocarcinoame mixte de tip endometrioid și seros și 3 de tip mixt endometrioid și cu celule clare) și un carcinom endometrial nediferențiat. În carcinoamele endometriale de tip seros a fost frecvent prezentă configurația papilară, cu arii solide și stratificare epitelială. Celulele tumorale au prezentat nuclei pleomorfi, hiperchromi, cu macronucleoli eozinofili (grad nuclear 3) (figura 3).

În 16 cazuri am identificat arii de diferențiere scuamoasă caracterizate prin prezența de punți intercelulare sau morule scuamoase. În 3 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 4).

Majoritatea cazurilor au fost gradate histologic în: G1 - bine diferențiat (121 de cazuri), 40 de cazuri au fost G2 - moderat diferențiat și 16 cazuri G3 - slab diferențiat.

Studiul gradului de invazie la nivelul peretelui uterin a evidențiat cantonarea la nivelul mucoasei în două cazuri, iar în 113 cazuri invazia a fost limitată la miometru (în 79 de cazuri mai puțin de 50% din grosimea peretelui, în 34 de cazuri peste 50%). În 25 de cazuri, carcinomul a fost extins la nivelul colului uterin, coarnelor uterine, anexelor sau vaginului.

Pentru gradarea adenocarcinoamelor endometrioide am folosit sistemul de gradare FIGO, tratamentul ulterior fiind bazat pe baza acestei stadializări (tabelul 2).

Atât biomarkerii individuali, cât și evidențierea unor paneluri de markeri imunohistochimici pot fi relevante pentru diagnosticul și evoluția proliferării neoplazice, oferind informații suplimentare față de datele clinicopatologice. Biomarkerii de prognostic sunt legați de supraviețuirea pacientelor, independent de tratament. Aceștia pot fi implicați în procesele de carcinogeneză. Biomarkerii predictivi oferă informații cu privire la răspunsul așteptat de la un pacient la tratament și reprezintă metoda principală de dezvoltare a medicinei personalizate. Profilul imunohistochimic al cazurilor luate în studiu a variat în funcție de parametrii clinici și histopatologici. În cazurile pozitive, expresia nucleară a receptorilor pentru estrogen și progesteron a fost identificată la nivelul celulelor epiteliale și stromale în proporții diferite. În hiperplaziile fără atipii, expresia receptorilor pentru ER s-a corelat direct proporțional cu expresia receptorilor pentru PR în celulele epiteliale glandulare, expresia ER variind între 0 și 90%, iar cea a PR, între 3 și 90%. În cazul hiperplaziilor endometriale atipice, expresia ER a variat între 0 și 60%, iar cea a PR, între 15 și 85% (figura 5).

În cazul hiperplaziilor atipice am identificat o valoare medie mai mare a pozitivității pentru PR, spre deosebire

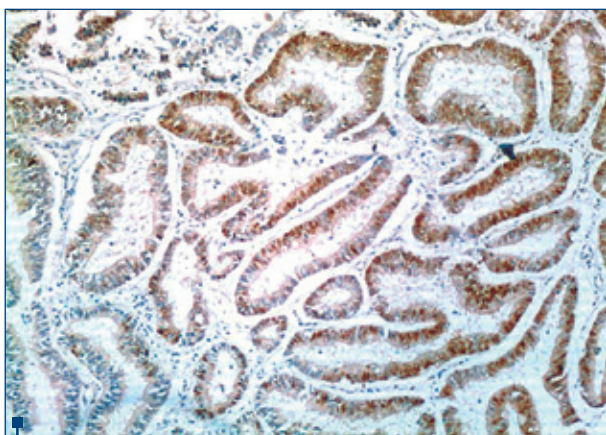


Figura 5. Hiperplazie complexă, cu atipii de endometru - expresia PR, obx10

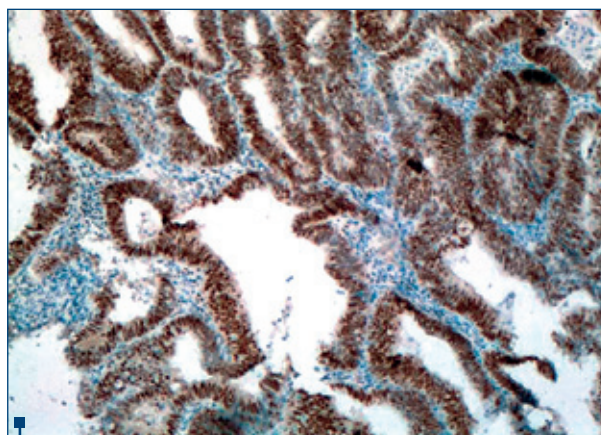


Figura 6. Adenocarcinom endometrial endometrioid - expresia ER, obx10

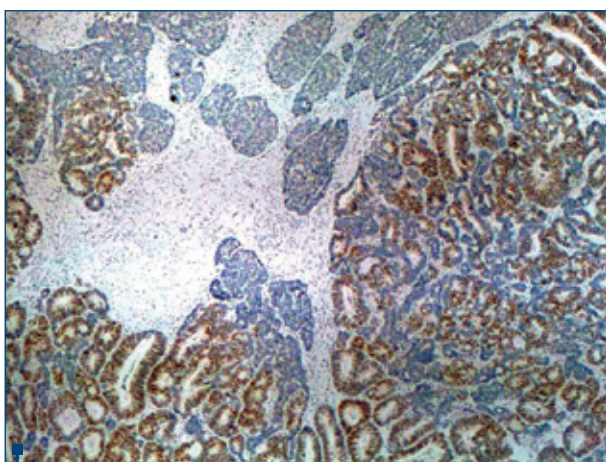


Figura 7. Adenocarcinom endometrial endometrioid - ER pozitiv în zonele de moderat diferențiat și negativ în cele de slab diferențiate, obx4

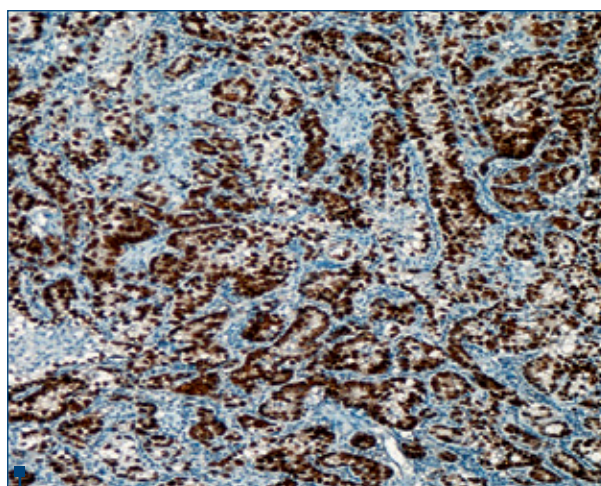


Figura 8. Adenocarcinom seros de endometru - expresia p53, obx4

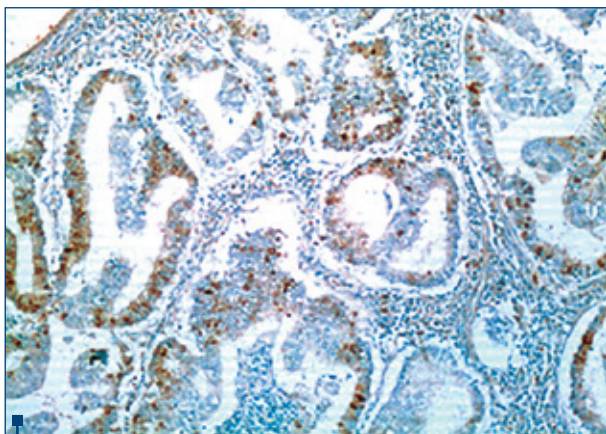


Figura 9. Hiperplazie complexă cu atipii de endometru - expresia ki67, obx10

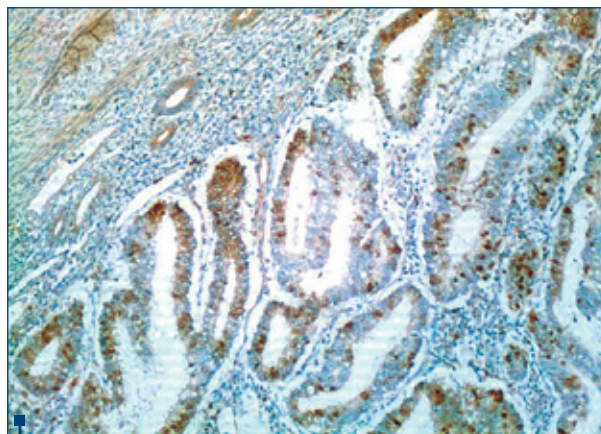


Figura 10. Adenocarcinom endometrial endometrioid - ki67, obx10

de celelalte subtipuri histologice la care imunomarcajul pentru ER a prezentat valori mai mari. În adenocarcinoamele endometriale studiate, expresia receptorilor

ER și PR s-a corelat cu gradul histologic al tumorilor, variind între 0 și 95% pentru ER și 0 și 90% pentru PR (figura 6).

Expresia receptorilor de estrogen (ER) și progesteron (PR) a fost marcat crescută în adenocarcinoamele endometrioide bine diferențiate (85-90%, respectiv 85-95%) și moderat diferențiate (75-85%, respectiv 80-90%), scăzând semnificativ în cele slab diferențiate (50-60%, respectiv 40-50%). Au existat cazuri de adenocarcinoame slab diferențiate sau arii slab diferențiate, în care receptorii ER și PR au fost negativi în celulele tumorale (figura 7).

Receptorii pentru estrogen și progesteron au fost exprimați predominant în adenocarcinoamele endometrioide de gradele 1 și 2 FIGO. În carcinoamele nonendometrioide de tip adenocarcinom seros nu am identificat expresie pentru estrogen și progesteron, iar în carcinoamele cu celule clare, expresia ER a fost prezentă în proporție de 20-30%, iar pentru PR a fost negativă.

Marcajul imunohistochimic cu p53, o genă supresoare tumorală, al carcinoamelor endometriale analizate a arătat o proporție mai mare a cazurilor negative decât a celor pozitive, dat fiind și procentul mai mare al carcinoamelor endometrioide în lotul studiat. Procentul mediu de pozitivitate pentru p53 a fost de 11,53% pentru carcinoame și aproximativ jumătate din acesta pentru hiperplazii, în timp ce majoritatea cazurilor s-au situat în jurul valorilor de 10-20%. Imunomarcajul p53 pe tipuri histopatologice a fost mai puternic și mai difuz în carcinoamele seroase comparativ cu cele cu celule clare și endometrioide (figura 8). Endometrul normal adiacent proliferărilor tumorale și stroma intercalată au fost negative pentru p53.

Expresia p53 a fost rară în carcinoamele endometrioide, unde am identificat frecvent o slabă pozitivitate în mai puțin de 50% din nucleii celulelor tumorale. Supraexpresia p53 (expresia intensă în mai mult de 75% din nucleii celulelor tumorale) ce rezultă din mutația și acumularea proteinei mutante p53 a fost exprimată într-o minoritate de cazuri de adenocarcinoame endometrioide FIGO de gradele 2 și 3.

Expresia și distribuția topografică a indexului de proliferare ki67 sunt în strânsă legătură cu ciclul celular. S-a realizat evaluarea proliferării celulare în fiecare compartiment celular al endometrului în lotul de studiu, atât în leziunile de tip hiperplazie sau carcinom, cât și în ariile de endometru normal adiacent leziunilor. Indicele de proliferare ki67 nu a prezentat o evoluție liniară de la benign la malign, cu indice mai mic în hiperplazia simplă față de endometrul normal, dar a crescut liniar de la hiperplaziile fără atipii la cele cu atipii și adenocarcinom. În cazul hiperplaziilor endometriale, procentul de pozitivitate pentru indicele de proliferare ki67 a crescut de la hiperplaziile fără atipii la cele cu atipii. În hiperplaziile endometriale din studiul nostru, ki67 a prezentat pozitivitate în celulele epiteliale glandulare, în aproximativ 3-35% din celule. Hiperplaziile fără atipii au prezentat valori ușor crescute ale indicelui de proliferare față de cele ale hiperplaziilor cu atipii (5-35% versus 3-30%) (figura 9).

Pozitivitatea pentru ki67 în adenocarcinoamele endometriale a prezentat o paletă largă de valori, cele mai

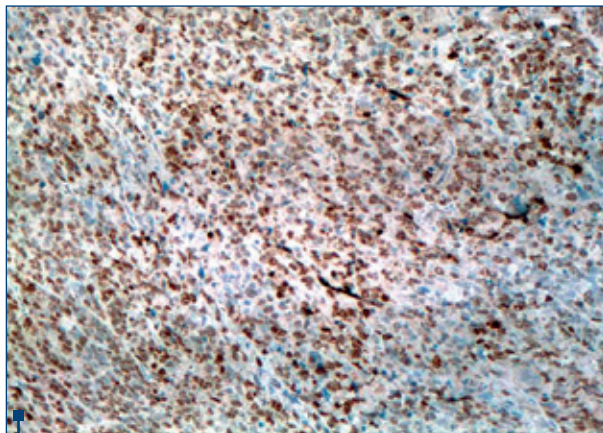


Figura 11. Carcinom endometrial slab diferențiat - expresia imunohistochimică a ki67, obx10

multe situate în intervalul 10-40%, valorile cele mai mari fiind întâlnite în carcinoamele seroase.

În adenocarcinoamele endometrioide bine și moderat diferențiate au prezentat pozitivitate de 20-40% în nucleii celulelor tumorale, aspect care se corelează cu gradul histologic și tipul histologic, acestea din urmă având un prognostic favorabil (figura 10).

În studiul realizat, indexul ki67 a fost foarte mare în carcinoamele seroase, carcinoamele cu celule clare, scuamoase și nediferențiate, acestea aparținând unui tip de tumori cu comportament agresiv (figura 11).

Discuții

Carcinomul endometrial este una dintre cele mai frecvente malignități ale tractului genital feminin, reprezentând a patra formă de cancer la femeile din țările dezvoltate (<http://globocan.iarc.fr>).

Cancerul reprezintă o problemă importantă de sănătate publică din cauza afectării calității vieții, morbidității și mortalității ridicate pe care o determină, prin acestea exercitând o presiune socială crescută prin costul investigațiilor, tratamentelor și suportului social care trebuie acordat celor afectați de această maladie. Mijloacele moderne de diagnostic și tratament au îmbunătățit prognosticul și calitatea vieții la bolnavii de cancer. Identificarea, clasificarea și determinarea potențialului evolutiv al leziunilor premaligne reprezintă o etapă importantă în lupta împotriva cancerului și a consecințelor acestuia. Depistate, clasificate și diagnosticate precoce și adecvat, aceste leziuni pot fi curabile, pot regresa sub tratament sau își pot încetini evoluția.

Deși carcinomul endometrial apare la vârste mai înaintate, progresele medicinei moderne reflectate în creșterea speranței de viață readuc în atenție această malignitate cu incidență în creștere. Astfel, terapia pentru alte afecțiuni neoplazice, cum ar fi Tamoxifenul, terapia de substituție hormonală la femei în menopauza fiziologică sau chirurgicală pot duce la creșterea frecvenței leziunilor precursorare endometriale și a carcinomului, cunoscută fiind implicarea suprastimulării estrogenice în patogenia acestor leziuni.

O altă problemă importantă este reprezentată de prezervarea capacității reproductive a femeilor aflate în perioada fertilă, la care este descoperită o leziune premalignă și dilema în care se află atât medicul, cât și pacientul în fața acestei situații.

Stabilirea unor clase de leziuni caracterizate cât mai complex din punct de vedere epidemiologic, clinic, histopatologic, biomolecular și prognostic este de importanță crucială în abordarea integrată a terapiei acestor leziuni, cu scăderea incidenței leziunilor maligne avansate și agresive, în creșterea calității vieții și a speranței de viață, cu reducerea consecutivă a costurilor materiale și sociale.

Vârsta medie de apariție este de 63 de ani, majoritatea cazurilor apărând la femei peste 50 de ani. Carcinomul endometrial este rar înainte de 40 de ani, incidența crește odată cu vârsta, cu un maxim la 75-79 de ani și o vârstă medie de 66,6 ani (Trimble C. L., 2012). Leziunile precursorale ale carcinomului endometrial apar în special la femeile în jurul vârstei de 50-54 de ani și rareori înainte de 30 de ani. Hiperplaziile fără atipii apar cu o decadă mai devreme decât cele cu atipii (Reed S. D., 2009).

În trecut s-a sugerat că hiperplazia de endometru este un precursor al carcinomului endometrial, leziunile începând cu hiperplazia simplă și evoluând spre leziuni mai avansate, în final dezvoltându-se carcinomul. Astăzi se cunoaște faptul că nu toate hiperplaziile endometriale au același potențial evolutiv și acesta poate fi evaluat pe baza aspectelor morfofopatologice. Din punct de vedere evolutiv, unele hiperplazii endometriale revin la normal spontan sau cu tratament medical, altele persistă ca hiperplazii și doar unele progresează spre carcinom endometrial. În general, formele cu atipii citologice sunt mai susceptibile de a dezvolta carcinom decât cele fără atipii.

Hiperplazia endometrială complexă atipică reprezintă o leziune precursorale, ea putând progresa în timp către carcinom endometrial în 5% până la 25% din cazuri (D'Andrill G., 2012). În studiul nostru am identificat 20% din cazuri ca aparținând acestui subtip.

În ciuda unei înțelegeri tot mai aprofundate a biologiei carcinoamelor endometriale, diferențierea leziunilor precursorale de cancerul invaziv pe baza biopsiei este dificilă.

Managementul chirurgical reprezintă un tratament acceptabil atât pentru hiperplazia endometrială, cât și

pentru cazurile de carcinom, dar gradul de extensie al operației depinde de diagnosticul histologic. Metodele imperfecte de recoltare sau de prelucrare a probelor, împreună cu criteriile de diagnostic subiective contribuie la dificultatea detectării și clasificării leziunilor.

Abordarea terapeutică a hiperplaziilor endometriale a reprezentat încă de foarte multă vreme una dintre cele mai mari controverse din ginecologie, datorită faptului că, deși această leziune nu este malignă, reprezintă un precursor de cancer invaziv (Desforges J.F., 1993).

Rezultatul histopatologic stabilește primul diagnostic și, în funcție de subtipul histologic și de gradul de diferențiere, clasifică leziunea în clase prognostice. Unul dintre obiectivele principale în elaborarea cu exactitate a diagnosticului este stabilirea unei terapii optime și evitarea unor intervenții chirurgicale excesive.

În prezent, sunt descriși numeroși biomarkeri utilizați în diagnosticul și conduita terapeutică atât a leziunilor precursorale, cât și a tumorilor maligne. Unul dintre diagnosticele cele mai dificile și slab reproductibile este hiperplazia endometrială atipică și există numeroase studii în literatură ce au încercat să creeze un panel de anticorpi care să ofere informații cu privire la substratul molecular și comportamentul biologic al acestei leziuni (Allison K.H., 2008).

Expresia receptorilor steroidieni joacă un rol semnificativ în tumorigeneza endometrială. Estrogenul se leagă la receptorii corespunzători din nucleu și inițiază expresia genică; în același timp, stimulând proliferarea celulară, estrogenul crește concomitent rata de apariție a mutațiilor (Markova I., 2010).

Statusul receptorilor steroidieni, mai ales al receptorilor de progesteron, este corelat cu gradul histologic și cu rata de supraviețuire, numeroase studii susținând faptul că prezența și intensitatea expresiei ER și PR se asociază cu stadiul bolii, gradul de diferențiere și cu rata de supraviețuire. Absența receptorilor steroizi este considerată un factor de prognostic negativ, corelându-se cu un comportament biologic agresiv al tumorii și cu un prognostic nefavorabil.

Kinetica tumorală este dată de turnoverul celular, dezvoltarea și creșterea neoplazică malignă fiind asociate cu dereglări ale proliferării celulare și/sau ale apoptozei. Această rată a proliferării a fost stabilită în studiul nostru utilizând markerul ki67.

Deși indicele de proliferare ki67 nu a prezentat o evoluție liniară de la benign la malign, datele noastre au fost compatibile cu cele din literatură, cu indice mai mic

Tabelul 3 Procentul mediu de pozitivitate pentru panelul ER/PR/ki67/p53 în lotul de studiu

	PR	ER	Ki67	p53
Hiperplazie fără atipii	43,65%	46,75%	10,94%	6,88%
Hiperplazie atipică	43,33%	33,33%	19%	5,63%
Adenocarcinom	38,18%	39,61%	24,27%	11,53%

în hiperplazia simplă față de endometrul normal (Ioffe O.B., 1998).

Mai mulți markeri ai proliferării celulare sunt prezenți în cancerul endometrial. Identificarea unui număr crescut de mitoze, expresia crescută a markerilor de proliferare tumorală (PHH3), precum și niveluri ridicate ale expresiei ki67 sunt considerate markeri de proliferare ai celulelor tumorale și sunt asociate cu caracteristici agresive și supraviețuire redusă în carcinoamele endometriale (Stefansson I.M., 2004).

Genă supresoare tumorală p53, o genă supresoare tumorală majoră, este localizată pe cromozomul 17p și codifică pentru un factor nuclear de transcripție. TP53 este frecvent modificată în carcinoamele endometriale, cel mai adesea în carcinoamele de tip II, și este asociată cu un comportament agresiv și supraviețuire redusă (Lax S.F., 2000).

În studiul efectuat, am analizat prezența mutației p53 prin detecție imunohistochimică. Trebuie luat în considerare faptul că absența imunoreacției nu exclude prezența mutației, deoarece anticorpul utilizat nu detectează mutațiile de tip frame shift sau codon stop. De asemenea, la pacientele la care s-a efectuat radioterapie, leziunile la nivelul ADN-ului pot determina acumularea p53 de tip sălbatic (McCallum D.E., 1999).

Prezența sau absența hiperplaziei este importantă în patogeneza și în evaluarea comportamentului biologic al carcinomului endometrial, în special expresia p53 în angiogeneză. Kaku T. și colaboratorii (1999) au găsit că semnificativ de multe paciente au avut carcinom cu hiperplazie asociată și că expresia p53 a fost observată în zona carcinomatoasă la pacienții cu hiperplazie (30,8%), comparativ cu cei fără hiperplazie (59,1%) (Kaku T., 1999).

În urma rezultatelor obținute în studiu, am considerat panoul ER/PR/Ki67/p53 ca fiind cel cu rezultatele cele mai semnificative pentru studiul realizat (tabelul 3).

Prin analiza indexului de proliferare ki67, am observat creșterea progresivă a acestuia cu tipul histologic și gradul

de diferențiere. Astfel, în cazul carcinoamelor endometrioide s-au înregistrat cele mai mici valori ale indexului de proliferare celulară, valoarea ki67 crescând progresiv cu gradul histologic al adenocarcinomului endometrioid.

Rezultatele unui studiu care și-a propus să analizeze valoarea prognostică a ER, PR, p53 și ki67 în corelație cu rata de supraviețuire și riscul de recidivă într-un lot alcătuit din 65 de cazuri de cancer endometrial au demonstrat o rată de supraviețuire superioară în cazurile cancerelor endometriale în stadiu și grad histologic mic, ER/PR pozitive, și ki 67 scăzut (maximum 35%) față de cazurile în stadiu avansat, cu diferențiere slabă, ER/PR negative, și ki67 >35% (rata de supraviețuire cea mai mică s-a înregistrat în grupul tumorilor cu cele mai mari valori pentru ki67). Astfel, statusul ER/PR și al ki67 au rol de factori de prognostic independenți pentru supraviețuire. Expresia ki67 este totodată un factor de prognostic independent pentru recidiva tumorală.

Concluzii

Numeroase leziuni benigne, dar și preneoplazice și maligne sunt întâlnite în timpul examinării de rutină a biopsiilor endometriale, iar acestea pot da naștere la dificultăți de diagnostic. În studiul de față s-a observat spectrul de modificări morfologice și biologice al unor entități uneori greu de identificat cu certitudine. Încadrarea corectă a afecțiunii în clasificări reprezintă un factor de prognostic, având impact major asupra calității vieții. Detectarea precoce este crucială pentru evoluția leziunilor maligne endometriale. O investigație aprofundată a tumorigenezei endometriale reprezintă un pas critic în dezvoltarea unor strategii de screening și de diagnostic precoce. ■

Recunoaștere: Această lucrare este parțial susținută de Proiectul Dezvoltarea resurselor umane - doctoranzi și postdoctoranzi pentru cercetare de excelență în domeniile sănătate și biotehnologii (DPD) POSDRU/159/1.5/S/141531.

Bibliografie

- Doll A, Abal M, Rigau M, Monge M, Gonzalez M, Demajo S, Colás E, Llauradó M, Alazzouzi H, Planagumá J, Lohmann MA, Garcia J, Castellvi S, Ramon y Cajal J, Gil-Moreno A, Xercavins J, Alameda F, Reventós J. Novel molecular profiles of endometrial cancer-new light through old windows. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008 Feb;108(3-5):221-9.
- Zaino R.J., Endometrial hyperplasia and carcinoma. Haines & Taylor Obstetrical and Gynaecological Pathology, Edited by Harold Fox and Michael Wells, Fifth edition, Churchill Livingstone 2003; 443-495.
- Feeley K.M., Wells M., Advances in endometrial pathology. Recent advances in histopathology Vol 19 Editors D G Lowe, J C E Underwood, Churchill Livingstone, 2001: 17-34.
- Yi X, Zheng W. Endometrial glandular dysplasia and endometrial intraepithelial neoplasia. Curr Opin Obstet Gynecol. 2008 Feb;20(1):20-5.
- Walker J.L., Nunez E.R. Endometrial cancer, in Kramer B.S., Gohagan J.K., Prorok P.C. (eds): Cancer Screening: Theory And Practice. NewYork, Marcell Dekker, Inc.,1999, pp. 531-566.
- http://globocan.iarc.fr
- Trimble C.L, Method M., Leitao M., Lu K., Ioffe O., Hampton M., Higgins R., Zaino R., Mutter G. L., for the Society of Gynecologic Oncology Clinical Practice Committee Management of Endometrial Precancers, Obstetrics & Gynecology vol. 120, nr. 5, nov. 2012.
- Reed S.D., Katherine M., Newton W., L. Clinton, Epplein M., Garcia R., Allison K., Lynda F., Voigt N., Weiss S., Incidence of endometrial hyperplasia. American Journal of Obstetrics & Gynecology, Volume 200, Issue 6, June 2009 Pages 678.e1-678.e6.
- D'Andrilli G., Bovicelli A., Paggi M.G., Giordano A. New insights in endometrial carcinogenesis. J Cell Physiol. 2012 Jul;227(7):2842-6.
- Desforges J.F., Carlson K.J., Nichols D.H., Schiff I. Indications for hysterectomy. N. Engl. J. Med. 1993, 32 (8): 856-4.
- Allison K.H., Reed S.D., Voigt L.F., Jordan C.D., Newton K.M., Garcia R.L. Diagnosing endometrial hyperplasia: why is it so difficult to agree? Am J Surg Pathol. 2008;32:691-8.
- Markova I., Duskova M., Lubusky M. et al. Selected Immunohistochemical Prognostic Factors in Endometrial Cancer. Int J Gynecol Cancer, 2010; 20: 576-582.
- Ioffe O.B., Papadimitriou J.C., Drachenberg C.B. Correlation of proliferation indices, apoptosis, and related oncogene expression (bcl-2 and c-erbB-2) and p53 in proliferative, hyperplastic, and malignant endometrium. Hum Pathol. 1998 Oct;29(10):1150-9.
- Stefansson I.M., Salvesen H.B., Immervoll H., et al: Prognostic impact of histological grade and vascular invasion compared with tumour cell proliferation in endometrial carcinoma of endometrioid type. Histopathology 44:472-9, 2004.
- Lax S.F., Kendall B., Tashiro H., et al: The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways. Cancer 88:814-24, 2000.
- McCallum D.E., Hupp T.R. Induction of p53 protein as a marker for ionizing radiation exposure in vivo. Methods Mol Biol. 1999;113:583-9.
- Kaku T., Endometrial carcinoma associated with hyperplasia--immunohistochemical study of angiogenesis and p53 expression. Gynecol Oncol. 1999 Jan;72(1):51-5.