

AMINELE BIOGENE ȘI PARTICULARITĂȚILE CLINICE, PARACLINICE ALE CANCERULUI ENDOMETRIAL

**Sofroni Dumitru, Guțu Lilian, Casian Neonila, Ancuța Eugen, Tripac Irina,
Eșanu Nicolae, Halipli Silvia**

Rezumat

Cancerul endometrial, precum am demonstrat prin metode complexe moderne (aprecierea cantitativă a ARN-ului mesager, imunohistochimie, microscopie electronică), este o maladie în inițierea și progresia căreia un rol deosebit le revine aminelor biogene, în special serotoninei și sistemului serotoninergic. În 72% cazuri de cancer endometrial se apreciază o creștere semnificativă (de zeci de ori) a ARN-ului mesager pentru triptofanhidroxilaza 1, majoritatea cazurilor aparținând clinic variantei patogenetice hormonal-dependente. În cazurile de nivel redus al ARN-ului mesager pentru triptofanhidroxilaza 1 este crescută frecvența variantei autonome, hormonal-independente de dezvoltare a cancerului endometrial. Adenocarcinoamele endometriale cu nivel sporit de ARN mesager pentru triptofanhidroxilaza 1 sunt, de regulă, bine diferențiate, cu un nivel limitat de infiltrare a peretelui uterin, pe când carcinoamele cu nivel scăzut de ARN mesager pentru această enzimă manifestă particularități histologice care denotă comportament agresiv. Imunohistochimic se constată o corelație inversă dintre expresia receptorilor estrogenici și nivelul de triptofanhidroxilază 1 în parenchimul carcinomului endometrial, însă nivelul receptorilor progesteronici corelează nesemnificativ cu expresia enzimei respective.

Cuvinte-cheie: cancer endometrial, amine biogene, serotonină, indicii histologici de agresivitate, reactivitate vasculară.

Summary. Clinical and para-clinical findings of endometrial cancer with different expression level of biogenic amines

Endometrial cancer is the most common gynaecologic malignancy and accounts for 6% of all cancers in women occupying the 4-th place in the women's cancer morbidity. Despite the fact that endometrial cancer is well studied oncology pathology from pathogenetic point of view, the inefficacy of prophylaxis and curative undertaken measures at this moment, dictates to look for new evaluations of genesis aspects of this illness.

There were investigated 232 endometrial cancer patients and 54 patients with benign uterine tumors. The results obtained using Ribonuclease protection assay, demonstrated that in more then 70% of endometrial cancer patients the level of mRNA for Tryptophan hydroxylase-1 (Tph-1), the initial and rate-limiting enzyme in the biosynthesis of the serotonin, was increased from 2 to 100 folds. The genetic level was confirmed by immunohistochemistry using monoclonal antibody for Tph-1. The positive staining for this enzyme was detected in tumor cells, but not in adjacent parenchyma.

A high level of messenger RNA for Tph-1 is a feature of endometrial cancer samples characterized by histological findings that obviously will suggest a more favorable prognostic. Paradoxical, in the tissue with elevated level of Tph-1 the level of serotonin was conversely, lowered. On the other hand, the tumor tissue characterized by a low level of Tph-1 the coupling of monoclonal antibody for serotonin was increased. This study demonstrated role played by biogenic amines, especially by serotonin, in the pathogenic mechanisms and pro oncogenic changes in endometrial cancer genesis. The expression of mRNA level for Tph-1 in tandem with standard morphology investigation can be used for appreciation of endometrial cancer aggressiveness and cancer treatment management.

Key words: endometrial cancer, biogenic amines, serotonin, histology aggressiveness, vascular reactivity.

Резюме. Клинические и параклинические особенности рака эндометрия с различным уровнем экспрессии биоаминов

Рак эндометрия одно из самых распространенных онкогинекологических патологий и составляет 6% из общего числа данного заболевания встречаемого у женщин, занимая 4-ую позицию в женской онкологической заболеваемости. Несмотря на значительные достижения в изучении особенностей течения рака эндометрия, до сих пор остаётся много неясных дискуссионных аспектов.

Целью данной работы было установление взаимосвязей между вариантами патогенетического развития рака эндометрия и уровнем местного внутриматочного синтеза биогенных аминов, определяя их роль в установлении агрессивности рака тела матки. Для решения задач работы было обследовано 232 больных с раком эндометрия и 54 больных с доброкачественными опухолями матки.

На основании полученных результатов с применением метода от действия рибонуклеазы (Ribonuclease protection assay), иммуногистохимических реакции, электронно-микроскопических исследований было установлено, что в более чем 70% больных раком эндометрия имелось значительное увеличение (в 2-100 раза) уровня информационной РНК ответственной за синтез триптофагидроксилазы-1, первого фермента в цепочке синтеза серотонина. Следует отметить, что иммуногистохимическая реакция к антителам триптофагидроксилазы-1 была наиболее высока в раковых клетках и совершенно отсутствовала в не пораженной опухолевым процессом паренхиме. Оказалось, что опухоли с высоким уровнем фермента являются более высокодифференцированными и имеют наименьший потенциал роста и, наоборот, рак эндометрия с низким уровнем триптофагидроксилазы-1 имеет больше гистологических данных об агрессивности и неблагоприятный прогноз.

Данная работа показывает важную роль, которую играют биогенные амины, в особенности серотонин, в патогенетических механизмах и проонкогенных изменениях патогенеза рака эндометрия. Изучение уровня триптофагидроксилазы-1 в тандеме с данными гистологической агрессивности открывают перспективу новых путей понимания этиопатогенеза и лечения рака тела матки.

Ключевые слова: рак эндометрия, биогенные амины, серотонин, показатель гистологической агрессивности, сосудистая реактивность.

Actualitatea problemei

Cancerul endometrial este una dintre cele mai răspândite patologii ginecologice maligne și alcătuiește 6% din totalitatea cancerului întâlnit la femei, ocupând a 4-a poziție în morbiditatea oncologică feminină (Parker S. et al., 1997; Sherman M. et al., 2005).

Morbiditatea prin cancer endometrial în republica Moldova a alcătuît 8,5 la 100.000 populație în 2001 și respectiv 15,2 în 2005, cunoscând o creștere anuală continuă. În 2001 au fost depistate 160 cazuri de cancer endometrial, pe când în 2005 – 221 cazuri primar

depistate (Sănătate publică în Moldova. C.Ş.P.P.M.S. 2000-2005).

Factori de pronostic deja bine-stabiliți ai cancerului endometrial sunt: gradul de diferențiere histologică, adâncimea invaziei în miometru și răspândirea extrauterină, inclusiv metastazele în nodulii limfatici retroperitoneali (Morrow C. et al., 1991; Yokoyama Y. et al., 1998; Bernstein L. et al., 2003; Doherty J. et al., 2005). Federația Internațională de Ginecologie și Obstetrică (FIGO) oferă un sistem de stadializare chirurgicală care reflectă evoluția și pronosticul cancerului

endometrial (Creasman W. et al., 1990; Clark T. et al., 2006; Ferrandina G. et al., 2005). Stadializarea morfopatologică și chirurgicală a tumorilor este recomandată pentru a determina o metodă de tratament adecvată fiecărei paciente individual, deoarece acești factori de pronostic nu pot fi cercetați preoperator. Oricum, unele paciente sunt supuse unei stadializări incomplete din cauza obezității, vârstei, or altor probleme medicale (Calais G. et al., 1990; Clark T. et al., 2002; Emons J. et al., 2004). Iată de ce identificarea preoperatorie a pacientelor ce ar avea un risc majorat pentru o evoluție nefavorabilă poate fi utilă în luarea deciziei privitor manoperei chirurgicale și tratamentului adjuvant. În acest sens, cercetările recente subliniază importanța diferitor factori în pronosticul evoluției tumorii, atribuindu-le rolul de markeri tumorali.

Cercetările clinico-fundamentale efectuate pe parcursul ultimelor decenii au constatat cert prezența a două variante etiopatogenetice vizând apariția și evoluția cancerului endometrial (1987). Sofroni D. (1996) la un lot de 1378 cazuri a stabilit prezența variantei hormonal-dependente la 81,1% de paciente cu cancer endometrial și la 18,9 % a variantei autonome. Investigațiile legate de sistemul endocrin difuz la nivel uterin au pus în evidență o legătură specifică dintre morfologia și patogenia hiperplaziei atipice și cancerul endometrial. Sistemul endocrin difuz (SED) reprezintă o totalitate de celule endocrine, populând diverse organe, ce au capacitatea de a sintetiza amine biogene și hormoni polipeptidici în spațiul interstițial tisular (Launay J et al., 1983; Teodorescu I., 1989; Lutan V. și col., 2000; Swerdlow A. et al., 2005). S-a stabilit cu certitudine, că celulele SED captează din patul vascular circulant sanguin, sau sintetizează local, amine biogene (adrenalină, noradrenalină, serotonină, histamină etc.) și modulează, într-o manieră specifică paracrină, homeostazia și procesele metabolice în celulele parenchimului (Pearse A., 1969; Lutan V. și col., 2000; Toni R., 2004). Enzima Tph-1 participă în sinteza serotoninei circulatorii, iar pe calea Tph-2 rezultă serotonină de origine neurogenă, care este implicată în transmiterea sinaptică (Walther D. et al. 2003).

Ueda G. et al. (1982) lansează teoria existenței într-o formă latentă a celulelor APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation, sinonim al SED) în celulele argirofile ale adenocarcinomului endometrial, iar activarea lor se produce în anumite condiții. Hiperplazia apudocitelor, inhibând procesele de mitoză celulară, duce la dezvoltarea variantei I hormono-dependente a cancerului endometrial cu manifestarea sindromului paraneoplazic endocrino-metabolic și influențează evoluția clinică a tumorii. S-a constatat, că endometrul normal conține 5-10 apudocite în câmpul

de vedere, iar în endometrul atrofic ele lipsesc, ceea ce denotă un nivel scăzut al proceselor metabolice din țesutul atrofiat. În cazul hiperplaziei glandulare celulele endocrine se decelează în 18% cazuri, în hiperplazia glandulară atipică – în 25%. În adenocarcinomul înalt diferențiat celulele endocrine se determină în 47%, iar în adenocarcinomul slab diferențiat scad până la 14-15% (Столярова Е., 1987).

Sivridis E. et al. (1984) afirmă că celulele secretoare de serotonină sau celulele argirofile sunt prezente substanțial în endometriul normal, în particular în faza de secreție a ciclului menstrual. Ele sunt de asemenea decelate în variate tipuri de hiperplazie endometrială și sunt depistate în mai mult de jumătate din carcinoamele endometriale.

În contextul celor expuse prezintă interes investigațiile orientate către elucidarea interrelațiilor locale, la nivel uterin, dintre aminele biogene, nivelul receptorilor estrogenici și progestironici în patogeneza cancerului endometrial.

Scopul lucrării constă în estimarea relațiilor dintre variantele patogenetice ale cancerului de corp uterin și aminele biogene sintetizate intrauterin, evaluând rolul lor în aprecierea preterapeutică a evoluției agresivității cancerului endometrial.

Obiectivele studiului:

1. Studiarea particularităților clinice și paraclinice ale evoluției cancerului endometrial în dependență de nivelul tisular al aminelor biogene.
2. Cercetarea nivelului ARN-ului mesager responsabil de sinteza triptofanhidroxilazei 1 în țesutul tumoral și paratumoral la paciente cu cancer endometrial.
3. Investigarea histologică a diferențierii și potențialului creșterii tumorale în cancerul endometrial în dependență de nivelul expresiei triptofanhidroxilazei 1 și aprecierea agresivității cancerului endometrial.
4. Estimarea relațiilor dintre expresia receptorilor estrogenici, progesteronici, nivelul ARN-ului mesager al triptofanhidroxilazei 1 și a serotoninei în carcinoamele endometriale.
5. Studiarea particularităților vasomotricității arterelor uterine în funcție de nivelul ARN-ului mesager al triptofanhidroxilazei 1 la paciente cu cancer endometrial.

Cancerul endometrial. Aminele biogene și sistemul serotoninergic, rolul lor în etiopatogenia cancerului endometrial

Studiul dat relevă o incursiune preliminară asupra informațiilor relatate în literatura de specialitate vis a vis de complexitatea etiopatogeniei cancerului endo-

metrial, importanța unor amine biogene (serotonina, adrenalina, noradrenalina, histamina și acetilcolina) în fiziologia normală și patologică a organismului și, în mod deosebit, în modificările produse de acestea la nivel de endometru. Datele expuse reflectă faptul că cancerul endometrial ocupă un loc de frunte în structura afecțiunilor oncologice ale sistemului genital feminin și reprezintă o problemă majoră de sănătate publică. Cu toate progresele obținute în studierea acestei tumori, multiple aspecte patogenetice rămân a fi neelucidate. Considerăm că investigarea aportului aminelor biogene, în special ale celor din cascada sistemului serotoninergic, va permite aprofundarea cunoștințelor despre mecanismele de dezvoltare ale cancerului endometrial.

Materiale și metode de cercetare

Investigațiile clinice au inclus examinarea a 232 paciente afectate de cancer endometrial (lotul I) și 54 paciente (lotul II, de referință) cu patologii benigne ale uterului. Vârsta medie a pacientelor a fost de $53,0 \pm 8,2$ ani.

În dependență de nivelul expresiei ARN-ului mesager al Tph-1, 162 paciente cu CrE au mai fost subdivizate în 3 grupuri distincte pentru a face corelații cu ceilalți indici investigați la aceste bolnave:

Grupul I ($n=57$) – cu media similară cu cea din lotul de referință;

Grupul II ($n=69$) – la care nivelul a sporit de 2-50 ori;

Grupul III ($n=32$) – cu nivelul augmentat de la 50 la 100 ori.

De asemenea, pacientele au fost supuse examenului ultrasonografic care a oferit informații despre dimensiunile, forma, poziționarea în spațiu și raportul cu organele din adiacență, dar și date despre starea endometrului și a anexelor uterine.

Rezultate

Studiul clinic a inclus 286 paciente ce au fost divizate în 2 loturi, respectiv, lotul I a cuprins 232 de bolnave cu cancer endometrial supuse histerectomiei totale cu anexectomie bilaterală și lotul II – lot martor ce a prezentat 54 paciente operate pentru un miom uterin și/sau alte maladii benigne ale uterului.

Clasarea cazurilor de cancer endometrial conform variantei patogenetice a fost făcută în urma retribuirii cazului către varianta I în baza întrunirii a două și mai multe condiții din următoarele: prezența hemoragiilor uterine anovulatorii, instalarea tardivă a menopauzei, nuliparitate, procese hiperplazice ale endometrului, polipi endometriali, hiperplazia glandulară atipică, sindromul Stein-Levental, asocierea miomului uterin, dereglări ale metabolismului lipidic și glucidic așa ca

diabetul zaharat și obezitatea. Către varianta II au fost repartizate cazurile în care au lipsit dereglările menționate, caracterizate prin atrofia endometrului adiacent procesului tumoral. În acest mod, s-a constatat că 161 cazuri (69,4%) s-au dezvoltat după prima variantă patogenetică, iar 71 cazuri (30,6%) – conform legiților variantei II. Vârsta medie la momentul diagnosticării cancerului endometrial a alcătuit $51,2 \pm 4,7$ ani pentru varianta I și $57,6 \pm 5,1$ ani pentru varianta II. S-a stabilit că vârsta medie la care s-a instalat menopauza a fost respectiv $52,3 \pm 1,04$ și $50,2 \pm 0,07$ pentru varianta I și II.

Particularitățile morfologice ale cancerului endometrial

Conform structurii morfopatologice a tumorilor depistate la pacientele cu cancer endometrial incluse în studiu s-a constatat că adenocarcinomul endometrioid a fost prezent în 73,3% (170 cazuri) din 232 paciente, iar carcinoamele neendometrioidice au fost stabilite în 26,7% sau 62 paciente.

Studiind diferențierea țesutului tumoral s-a constatat că la circa jumătate din cazuri ($n=83$) de adenocarcinom endometrial de tip endometrioid a fost prezent gradul de diferențiere G1 ceea ce constituie 48,8%. La 47 bolnave (27,6%) a fost apreciat gradul G2, iar gradul G3 și G4 s-a stabilit în 31 (18,2%) și 9 (5,3%) cazuri, respectiv.

Evaluarea nivelului expresiei ARN-ului mesager pentru triptofanhidroxilaza-1 în cancerul endometrial

În probele prelevate de la pacientele cu cancer endometrial nivelul ARN-ului mesager pentru Tph-1 a fost de la 3,6 până la 800,6 U (cu media pe lot $102,8 \pm 23,88$). La pacientele din lotul martor analiza respectivă a țesutului endometrial a relevat cifre cuprinse între 2,9 și 21,5 U (media fiind $7,84 \pm 1,33$). Este de menționat, că în țesutul miometrial recoltat de la ambele loturi de bolnave nivelul ARN-ului mesager al Tph-1 a fost aproape identic ($7,88 \pm 1,75$ în uterele afectate de CrE și $8,02 \pm 3,24$ în cele fără CrE), fapt ce demonstrează că expresia genetică pentru această enzimă este caracteristică țesutului endometrial malign (fig.1).

Diferențele majore de ARN mesager apreciate la pacientele cu cancer endometrial au stat la baza divizării cazurilor în 3 grupe distincte, în care drept punct de referință a stat media (8 unități convenționale) obținută în țesuturile recoltate din uterele neafectate de cancer. **În primul grup ($n=57$)** au fost incluse pacientele la care cantitatea ARN-ului mesager a fost de la 3,6 până la 13,8 U, astfel cantitatea maximală în acest grup nu a depășit dublu nivelul martor. **În**

grupul secund (n=69) au fost plasate cazurile în care expresia ARN-ului mesager a fost sporit de 2-50 ori, iar **grupul 3 (n=36)** a inclus speci­me­nele cu nivelul augmentat de 50-100 ori.

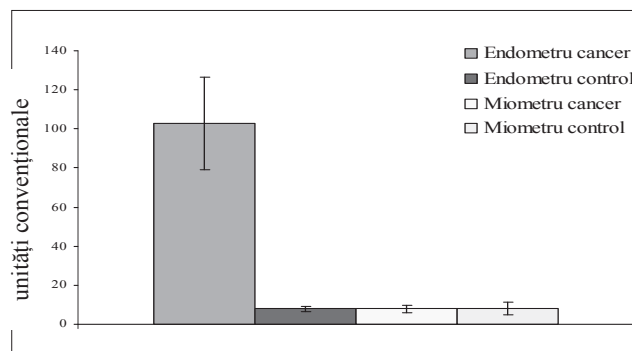


Fig.1. Nivelul mediu al ARN-ului mesager pentru Tph-1 în endometrul și miometrul de la paciente cu și fără cancer endometrial

Valorile medii a cantității de mRNA pentru Tph-1 în tumorile recoltate de la pacientele incluse în primul grup au fost $8,25 \pm 0,72$ U. În tumorile prelevate de la bolnavele plasate în grupul secund nivelul mediu a fost $41,56 \pm 4,75$ U, iar la cele din grupul III – $382,23 \pm 71,48$ U.

În **grupul I**, din 57 paciente în 28 cazuri cantitatea mRNA-ului a fost mai mică (3,6-7,8U) decât nivelul de referință, iar la 29 bolnave nivelul a fost mai mare ($<13,8$ U).

Analizând datele clinice și paraclinice, s-a constatat că majoritatea pacientelor (47,4%) din grupul I maladia s-a depistat în stadiul I (n=27), din care 8 $T_{1a}N_xM_0$, 11 $T_{1b}N_xM_0$ și 5 $T_{1c}N_xM_0$. Stadiul II a fost depistat în 19 cazuri (33,3%), stadiul III în 9 cazuri (15,8%), iar stadiul IV în 2 cazuri (3,5%).

La aproape jumătate din cazurile incluse în **grupul II** (nivelul ARN-ului mesager pentru Tph-1 a fost sporit de 2-50 ori cu valorile de la 15,2 până la 87 U) s-a stabilit stadiul I (n=33), din care 9 $T_{1a}N_xM_0$, 17 $T_{1b}N_xM_0$ și 7 $T_{1c}N_xM_0$. Stadiul II a fost depistat în 23 cazuri (33,3%), stadiul III în 19 cazuri (13%), iar stadiul IV în 4 cazuri (5,7%).

Adenocarcinomul endometrioid a fost stabilit la 47 din 69 de bolnave incluse în grupul I. În 22 cazuri gradul de diferențiere tumorilor a fost în limitele G1, la 16 paciente G2, în 7 cazuri G3, iar G4 la 2 bolnave. 38 bolnave au avut caracteristicile variantei patogene­ti­ce primare, iar 9 paciente – celei autonome. În 24 cazuri a fost diagnosticat stadiul I, din care la 8 paciente s-a constatat $T_{1a}N_xM_0$, la 11 bolnave $T_{1b}N_xM_0$, iar în 5 cazuri $T_{1c}N_xM_0$. La 15 paciente a fost diagnosticat stadiul II, iar stadiul III și IV a fost depistat la 6 și, respectiv, 2 paciente.

În **grupul III** (cu valorile ARN-m pentru Tph-1 cuprinse între 130,2 și 800,6 U) din 36 pacien­te în 21 cazuri s-a stabilit stadiul I (58,3%), din care 5 – $T_{1a}N_xM_0$, 9 – $T_{1b}N_xM_0$ și 7 – $T_{1c}N_xM_0$. Stadiul II a fost depistat la 11 bolnave (30,5%), stadiul III la 4 paciente (11,1%).

La 27 bolnave incluse în grupul III a fost apreci­ată prezența adenocarcinomului endometrioid. Majoritatea mostrelor histologice au posedat un grad înalt de diferențiere. Gradul de diferențiere G1 s-a depistat în 16 cazuri, G2 la 10 paciente, iar G3 – la o pacientă. Carcinomul adenosquamos a fost atestat la o pacientă inclusă în grupul III, care a fost diagnosticată în stadiul I $T_{1b}N_xM_0$.

Cancerul endometrial neendometrioid din grupul III diagnosticat la 8 paciente a fost reprezentat de carcinomul seros papilar (n=4), cu celule clare (n=1) și de carcinomul nediferențiat în 3 cazuri. Către varianta patogenetică autonomă au fost retribuite 2 paciente cu cancer seros papilar și un caz cu adenocarcinom endometrial nediferențiat. Așadar, la circa 2/3 din pacientele cu cancer endometrial crește semnificativ nivelul expresiei genetice al ARN-ului mesager pentru Tph-1, din care în 83% cazuri au fost atribuite varian­tei patogene­ti­ce endocrin dependente.

Relații dintre aminele biogene în cancerul endometrial și rolul lor în agresivitatea tumorală

Analiza expresiei genetice a triptofan hidroxilazei-1 în tumorile prelevate de la pacientele cu cancer endometrial a demonstrat prezența unor relații substanțiale dintre mecanismele etiopatogenetice de dezvoltare a tumorii cu veriga inițială a sistemului serotoninergic. Nivelul înalt de Tph-1 a fost apreciat mai frecvent la bolnavele cu varianta patogenetică endocrin-dependență, în care receptorilor estrogenici și progesteronici le revine un rol primordial.

Densitatea receptorilor progesteronici au avut tendință de augmentare la pacientele grupului III (tab 1).

Tabelul 1.

Gradul de expresie al reacției imunohistochemice cu anticorpi la Tph-1, 5HT, ER, PR

Reacția cu Acc monoclonali	Grupul I	Grupul III
Tph-1 +	0,7+	2,2+
5HT +	2,2+	1,6+
ER ^R	+5,1	-1,5
PR ^R	-1,3	-1,8

Notă: + aprecierea intensității colorării de la 0+ la 3+; ^R aprecierea scorului după Remmele

La pacientele din grupul III, imunohistochimic s-a confirmat că expresia genetică a Tph-1 se soldează cu sinteză sporită de enzimă, densitatea cărei este vădit pronunţată în celulele neoplazice, dar nu şi în stromă. Totodată, la aceste paciente a fost redus considerabil numărul receptorilor estrogenici (fig 2).

Nivelul de cuplare cu anticorpii monoclonali ai Tph-1 în tumorile prelevate de la pacientele incluse în grupul I a fost redus, ceea ce confirmă valabilitatea investigaţiilor nivelului ARN-ului mesager. Totodată la aceste paciente a crescut frecvenţa reacţiei faţă de anticorpii serotoninergici, fapt ce sugerează existenţa în ţesutul tumoral a unui feed-back negativ dintre serotonină şi enzima responsabilă de sinteza acesteia. De menţionat, ca în aceste tumori a crescut considerabil densitatea receptorilor estrogenici (fig 3). Caracteristica histologică a gradului agresivităţii cancerului endometrial şi stabilirea relaţiilor cu expresia genetică a triptofanhidroxilazei-1

În urma efectuării analizelor privitor cercetărilor histologice şi rezultatelor imunohistochimice, s-a constatat că reacţia la Tph-1 a fost pozitivă în grupul

III, la speciemenle adenocarcinomului endometrial endometrioid, înregistrându-se o creştere a reacţiei pozitive de la $2,0\pm0,5$ la $2,4\pm0,2$ plusuri în adenocarcinoamele cu un grad de diferenţiere de la G3 la G1 (tab.2). În mod contrar, în grupul I, în toate probele tisulare de cancer endometrial endometrioid s-a înregistrat o reacţie negativă ($0,8-1,2$ plusuri).

Tabelul 2.

Expresia imunohistochimica a Tph-1 şi serotoninei în dependenţă de structura histologica a tumorilor şi gradul de diferenţiere

Cancer	Grupul I		Grupul III	
	Tph-1	5HT	Tph-1	5HT
adenocarcinom endometrial endometrioid G1(2 şi 6 cazuri)	$1,2\pm1,0$	$3,6\pm0,3$	$2,4\pm0,2$	$1,7\pm0,4$
G2(2 şi 3 cazuri)	$0,9\pm0,8$	$2,6\pm0,2$	$2,2\pm0,1$	$1,8\pm0,3$
G3(5 şi 1 cazuri)	$0,8\pm0,7$	$2,4\pm0,1$	$2,0\pm0,5$	$0,6\pm0,9$
seros papilar(3 şi 0 cazuri)	$0,0\pm0,0$	$0,9\pm0,7$	$0,0\pm0,0$	$0,0\pm0,0$

Notă: datele reprezintă media de plusuri acumulate la aprecierea intensităţii reacţiei

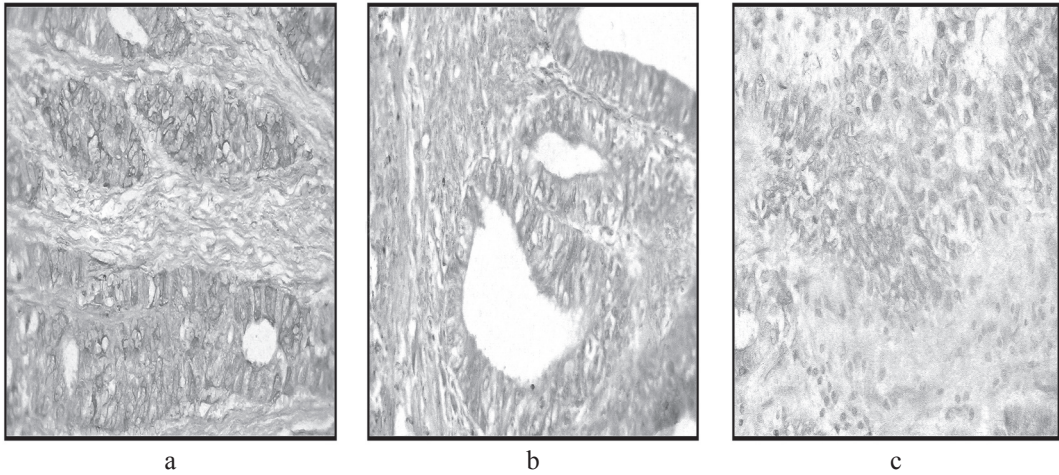


Fig. 2. Reacţie imunohistochimică în ţesutul prelevat de la pacienta grupului III: a – pozitivă pronunţată la Tph-1; b – absentă la serotonină; c – diminuată la receptorii estrogenici; x 400.

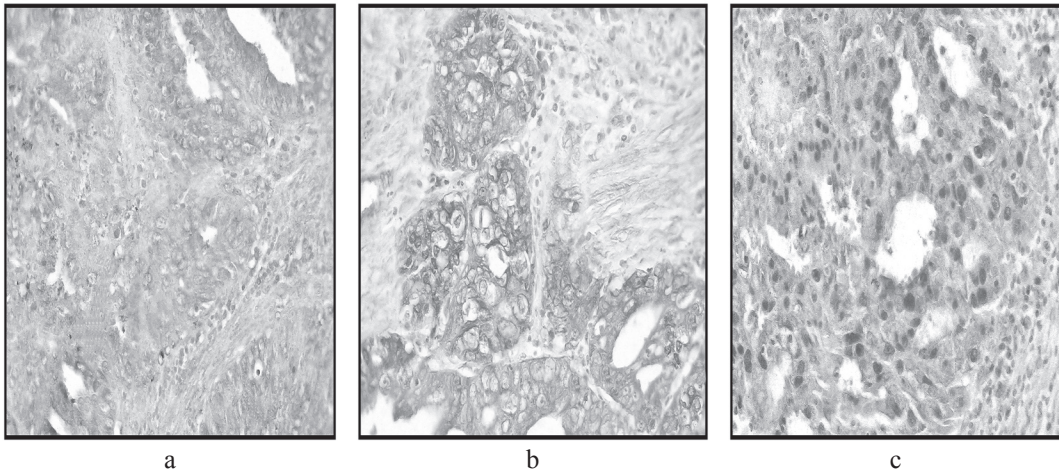


Fig 3. Reacţie imunohistochimică în ţesutul prelevat de la pacienta grupului I: a – reacţie slab-pronunţată la Tph-1; b – pozitivă pronunţată la serotonină; c – pozitivă la receptorii estrogenici; x 400.

La pacientele din grupul III, unde densitatea serotoninei a fost slab pronunțată s-au atestat $1,7\pm0,4$ plusuri în G1; $1,8\pm0,3$ în G2 și, o descreștere exprimată în G3 – $0,6\pm0,9$ Paradoxal, în cazul grupului I și, mai puțin valabil pentru grupul II, unde nivelul Tph-1 este scăzut, reacția pentru serotonină a fost pozitivă – 2,2 plusuri. Distribuția în dependență de gradul de diferențiere a țesutului tumoral a arătat că serotonina prezentând o reacție de $3,6\pm0,3$ plusuri în G1 grupul I, menține acest nivel înalt în G2 și G3: $2,6\pm0,2$ și $2,4\pm0,1$ plusuri, iar în carcinomul seros papilar serotonina este practic absentă.

Rezultatul investigațiilor reacției imunohistochimice la receptorii estrogenici după scara lui Remmele a fost pozitiv în grupul I prezentând $7,5\pm1,1$ puncte în diferențierea tumorii G1; $5,3\pm1,1$ în G2 și $4,9\pm1,0$ puncte în G3. De menționat, că doar într-un caz din probele G3 reacția a fost pozitivă, iar în restul – negativă, ceea ce se explică prin pierderea diferențierii tumorii și creșterea autonomiei locale. De asemenea, receptorii estrogenici nu au fost depistați în carcinomul seros papilar, posibil, pentru că acest tip histologic este reprezentativ pentru a doua cale de dezvoltare patogenetică.

Caracteristica histologică a gradului agresivității cancerului endometrial și stabilirea relațiilor cu expresia genetică a triptofanhidroxilazei-1

În urma efectuării analizelor privitor cercetărilor histologice și rezultatelor imunohistochimice, s-a constatat că reacția la Tph-1 a fost pozitivă în grupul III, la speciemenle adenocarcinomului endometrial endometrioid, înregistrându-se o creștere a reacției pozitive de la $2,0\pm0,5$ la $2,4\pm0,2$ plusuri în adenocarcinoamele cu un grad de diferențiere de la G3 la G1 (tab.3). În mod contrar, în grupul I, în toate probele tisulare de cancer endometrial endometrioid s-a înregistrat o reacție negativă ($0,8-1,2$ plusuri).

Tabelul 3.

Expresia imunohistochimica a Tph-1 și serotoninei în dependență de structura histologică a tumorilor și gradul de diferențiere.

Cancer	Grupul I		Grupul III	
	Tph-1	5HT	Tph-1	5HT
adenocarcinom endometrial endometrioid G1(2 și 6 cazuri)	$1,2\pm1,0$	$3,6\pm0,3$	$2,4\pm0,2$	$1,7\pm0,4$
G2(2 și 3 cazuri)	$0,9\pm0,8$	$2,6\pm0,2$	$2,2\pm0,1$	$1,8\pm0,3$
G3(5 și 1 cazuri)	$0,8\pm0,7$	$2,4\pm0,1$	$2,0\pm0,5$	$0,6\pm0,9$
seros papilar(3 și 0 cazuri)	$0,0\pm0,0$	$0,9\pm0,7$	$0,0\pm0,0$	$0,0\pm0,0$

Notă: datele reprezintă media de plusuri acumulate la aprecierea intensității reacției

La pacientele din grupul III, unde densitatea serotoninei a fost slab pronunțată s-au atestat $1,7\pm0,4$ plusuri în G1; $1,8\pm0,3$ în G2 și, o descreștere exprimată în G3 – $0,6\pm0,9$ Paradoxal, în cazul grupului I și, mai puțin valabil pentru grupul II, unde nivelul Tph-1 este scăzut, reacția pentru serotonină a fost pozitivă – 2,2 plusuri. Distribuția în dependență de gradul de diferențiere a țesutului tumoral a arătat că serotonina prezentând o reacție de $3,6\pm0,3$ plusuri în G1 grupul I, menține acest nivel înalt în G2 și G3: $2,6\pm0,2$ și $2,4\pm0,1$ plusuri, iar în carcinomul seros papilar serotonina este practic absentă.

Rezultatul investigațiilor reacției imunohistochimice la receptorii estrogenici după scara lui Remmele a fost pozitiv în grupul I prezentând $7,5\pm1,1$ puncte în diferențierea tumorii G1; $5,3\pm1,1$ în G2 și $4,9\pm1,0$ puncte în G3. De menționat, că doar într-un caz din probele G3 reacția a fost pozitivă, iar în restul – negativă, ceea ce se explică prin pierderea diferențierii tumorii și creșterea autonomiei locale. De asemenea, receptorii estrogenici nu au fost depistați în carcinomul seros papilar, posibil, pentru că acest tip histologic este reprezentativ pentru a doua cale de dezvoltare patogenetică.

Analiza electrono-microscopică a adenocarcinoamelor endometriale și stabilirea relațiilor cu gradul expresiei genice a triptofanhidroxilazei-1

În studiul electrono-microscopic s-a constatat că parenchimul tumoral a fost constituit din celule epiteliale care interconectau prin desmosomi, joncțiuni aderente și concludente, ultimele două tipuri de joncțiuni specializate fiind localizate la polul apical al celulelor epiteliale. Suprafața apicală a celulelor care delimitează lumenul glandular forma microvili, iar suprafețele laterale ale celulelor învecinate erau netede și delimitau un spațiu intercelular îngust. Suprafața bazală a celulelor, aflată la hotar cu stroma conjunctivă era situată pe membrana bazală.

O parte din celule epiteliale din adenocarcinoamele grupului I și II, de asemenea, excepțional de rar, celulele epiteliale dintr-un adenocarcinom din grupul III, conțineau granule neurosecretorii de dimensiuni mici cu diametrul de 300-350 nm, care aveau forma ovală sau rotundă și un conținut electronodens (fig.4). Ultrastructural, aceste mici formațiuni dețin toate caracteristicile granulelor neuroserotonice, prezente, de obicei, în trombocite și în celulele sistemului endocrin difuz. Toate țesuturile tumorale, inclusiv cele cu granule secretorii, aparțineau tipului histologic endometrioid, 3 având diferențierea G2 și 6 – G1. Este de menționat că în cazurile în care au fost depistate aceste granule, ele erau asociate cu un nivel scăzut al Tph-1 ARNm (fig. 4A). Adițional, probele la care

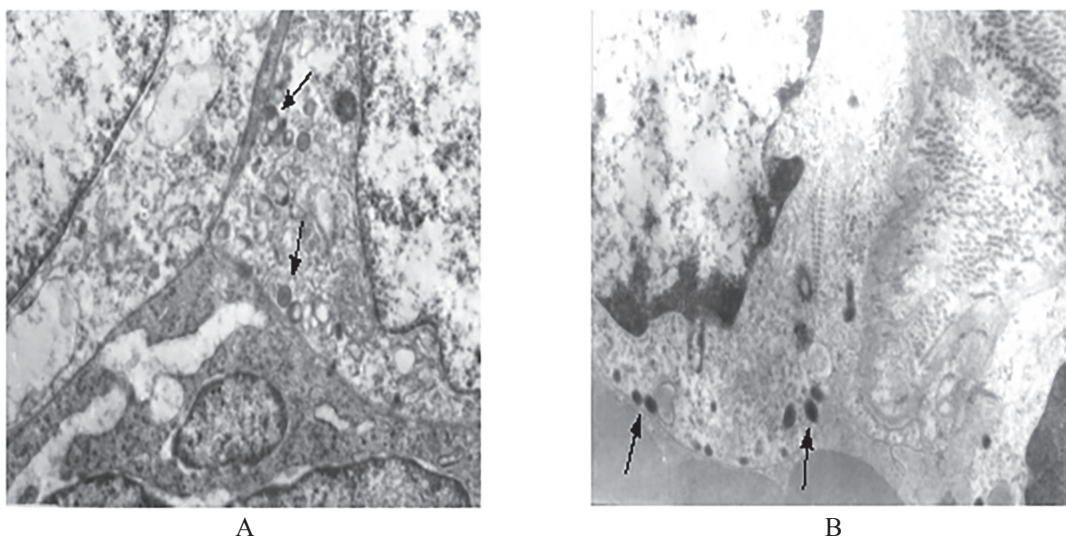


Fig. 4. Prezența granulelor endocrine (←), identice după aspectul structural granulelor serotoninice în citoplasma celulelor epiteliale A-adenocarcinom endometrial al pacientei din grupul I, electronografie X 11500; B- Granule rareori prezente în citoplasma celulelor endoteliale ale vaselor stromale. X 12000.

s-au depistat granulele neurosecretorii prin prisma metodei protecției împotriva acțiunii ribonucleazei și examenului histologic au corespuns caracteristici manifeste ale agresivității tumorale însumând un scor de 9 puncte. De asemenea, microscopia electronică a confirmat că tumorile cancerului endometrial conținătoare de serotonină prezintă o diferențiere înaltă.

În ce privește stroma conjunctivă, am reușit să decelăm prezența granulelor neuroendocrine serotoninice numai în citoplasma unor celule endoteliale (fig.4 B) din capilarele sanguine.

Particularitățile reactivității vasculare in vitro la aplicarea aminelor biogene pe artera uterină din uterale cu cancerul endometrial, conexiuni cu nivelul expresiei genetice a triptofanhidroxilazei-1

Cercetările în baia de organ izolat au atestat o acțiune vasoconstrictoare a NA $10^{-5}M$ pe inelele prelevate de la cele trei grupuri de paciente cu cancer endometrial care corelează cu nivelul expresiei de ARN mesager pentru Tph-1. Astfel, răspunsul receptor-dependent demonstrat pe inelele recoltate de la speci-menele grupului I la plasarea NA a fost cu 32,7% mai mare comparativ cu lotul de referință. La lotul II, din contra, nivelul vasoconstricției adrenergice a fost cu 14,1% mai redus decât la lotul de referință, sau cu circa 37% mai mic decât la pacientele din lotul I. Pe inelele recoltate de la pacientele grupului III valoarea răspunsului adrenergic a constituit 65,2% din valoarea contracției similare realizate la lotul de referință și aproximativ înjumătățită (circa 49%) comparativ cu lotul I. Așadar, reactivitatea vasoconstrictoare alpha-adrenergică este mai mare atunci când nivelul

triptofanhidroxilazei este mic și se augmentează la pacientele cu pronostic defavorabil.

De menționat, că în cazul experimentelor noastre, reactivitatea serotoninergică la nivelul arterelor uterine prelevate de la pacientele cu cancer endometrial corelează direct proporțional cu expresia colorării pentru serotonină și invers proporțional cu reacția pentru triptofanhidroxilaza-1 detectate imunohisto-chimic. La lotul III, din contra, indicele agresivității tumorale a fost mai scăzut, ceea ce a corespuns cu un nivel vasoconstrictor mai mic al fragmentelor de artera uterină la plasarea serotoninei în mediul de per-fuzie.

Concluzii

1. Cancerul endometrial, precum am demon-strat prin metode complexe moderne (aprecierea cantitativă a ARN-ului mesager, imunohistochimie, microscopie electronică), este o maladie în inițierea și progresia căreia un rol deosebit le revine aminelor biogene, în special serotoninei și sistemului serotoninergic.

2. În 72% cazuri de cancer endometrial se apre-ciază o creștere semnificativă (de zeci de ori) a ARN-ului mesager pentru triptofanhidroxilaza 1, majorita-tea cazurilor aparținând clinic variantei patogenetice hormonal-dependente. În cazurile de nivel redus al ARN-ului mesager pentru triptofanhidroxilaza 1 este crescută frecvența variantei autonome, hormonal-in-dependente de dezvoltare a cancerului endometrial.

3. Adenocarcinoamele endometriale cu nivel sporit de ARN mesager pentru triptofanhidroxilaza 1 sunt, de regulă, bine-diferențiate, cu un nivel limitat

de infiltrare a peretelui uterin, pe când carcinoamele cu nivel scăzut de ARN mesager pentru această enzimă manifestă particularități histologice care denotă comportament agresiv.

Bibliografie

1. Friptu V., Bairac V., Cardaniuc C., Guțu L., Nacu L., Todiraș M. *Particularitățile hemodinamicii uterine regionale în fibromiomul uterin simptomatic*. Buletin de perinatologie. 2003, 4, p. 36-39.
2. Cardaniuc C., Friptu V., Todiraș M., Guțu L. *Reactivitatea serotoninergică a arterelor uterine în miomul uterin simptomatic*. Zilele Universității 14-15 octombrie 2004, ediția V, Analele Științifice a USMF "N Testemițanu", "Probleme clinico-chirurgicale și ale sănătății mamei și copilului". 2004, vol. III, p. 749-754.
3. Mustea A., Heinze G., Koensgen D., Sehouli J., Wolf A., Sofroni D., Guțu L., Schuster E. *The -463G/A Polymorphism in myeloperoxidase and cervical cancer. Results of a case control study*. Zentralbl Gynakol. 2004, 126, p. 315-322.
4. Guțu L. *Evaluarea implicațiilor sistemului serotoninergic în cancerul endometrial*. Info-Med. 2006, 2(10), p. 16-19.
5. Guțu L. *Cancerul endometrial. Particularități etiopatogenetice, conexiuni cu sistemul serotoninergic*. Analele Științifice a USMF "N Testemițanu", ediția VII. 2006, vol. I, p. 83-87.
6. Guțu L., Sofroni D., Cernîi A., Tenner Katja, Todiraș M., Cardaniuc Corina, Bader Michael. *Particularitățile morfologice și ultrasonografice ale pacientelor afectate de cancerul endometrial*. Info-Med. 2007, 1(11), p. 16-19.
7. Guțu L., Sofroni D., Cernîi A., Tenner Katja, Todiraș M., Cardaniuc Corina, Bader Michael. *Evaluarea histologică a gradului agresivității cancerului endometrial și stabilirea relațiilor cu expresia triptofanhidroxilazei-1*. Info-Med. 2007, 1(11), p. 20-23.
8. Guțu L., Sofroni D., Cernîi A., Tenner Katja, Todiraș M., Cardaniuc Corina, Bader Michael. *Cancerul endometrial. Abordarea particularităților patogenetice prin prisma triptofanhidroxilazei-1, serotonininei, și receptorilor estrogenici și progesteronici*. Buletin de perinatologie. 2007, 2, p. 21-26.