

# PARTICULARITĂȚI HISTOPATOLOGICE ȘI EVALUAREA IMUNOHISTOCHEMICĂ A PROCESULUI DE INVAZIVITATE ÎN ENDOMETRIOZA EXTRAGENITALĂ

CZU: 618.145-091.8-07-08

DOI: <https://doi.org/10.52673/18570461.25.1-76.07>Membru corespondent al AȘM **Ereimei ZOTA**<sup>1</sup>E-mail: [iervic@gmail.com](mailto:iervic@gmail.com)ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1365-2633>Doctor în științe medicale, profesor universitar **Claudiu MĂRGĂRITESCU**<sup>2</sup>E-mail: [c\\_margaritescu2000@yahoo.com](mailto:c_margaritescu2000@yahoo.com)ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4937-5589>Asistent universitar **Eugeniu CAZACU**<sup>1</sup>E-mail: [eugeniu.cazacu@usmf.md](mailto:eugeniu.cazacu@usmf.md)ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2893-6401><sup>1</sup>Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”<sup>2</sup>Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova, România

## HISTOPATHOLOGIC FEATURES AND IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF INVASIVENESS IN EXTRA-GENITAL ENDOMETRIOSIS

**Summary.** The SDF-1/CXCR4 axis plays a crucial role in the invasion and metastatic processes of many human cancers. We are interested in investigating the involvement of this axis in the development of extragenital endometriosis, given its potential to influence the invasive behavior of endometrial tissue. This research could provide new insights into disease mechanisms and identify new targets for treatment. SDF-1 and CXCR4 protein expression was evaluated by immunohistochemistry in 43 cases of endometriosis and in 6 cases of normal endometrial tissues. SDF-1 and CXCR4 proteins were expressed both in endometriosis lesions and in glandular epithelial cells and mesenchymal cells of normal endometrial tissue. Positive staining was localized to the cytoplasm. A specific value was used to calculate and analyze the intensity of immunohistochemical expression. The expressions of these two proteins in endometriosis lesions were significantly higher compared with those in normal endometrial tissues, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Both markers, SDF-1 and its receptor CXCR4, were more highly expressed in endometriosis lesions compared with normal endometrial tissue. SDF-1, through its interaction with the CXCR4 receptor, plays a significant role in the pathogenesis of endometriosis by contributing to the proliferation process of endometrial stromal cells.

**Keywords:** SDF-1, endometriosis, CXCR4, chemokine.

**Rezumat.** Axa SDF-1/CXCR4 joacă un rol decisiv în procesele de invazie și metastazare ale multor tipuri de cancere umane. Suntem interesați să investigăm implicarea acestei axe în dezvoltarea endometriozei extragenitale, având în vedere potențialul său de a influența comportamentul invaziv al țesutului endometrial. Această cercetare ar putea oferi noi perspective asupra mecanismelor bolii și ar putea identifica noi ținte pentru tratament. Expresia proteinei SDF-1 și CXCR4 a fost evaluată prin imunohistochimie în 43 de cazuri de endometrioză și în 6 cazuri de țesuturi normale ale endometrului. S-a constatat că proteinele SDF-1 și CXCR4 au fost exprimate atât în leziunile de endometrioză, cât și în celulele epiteliale glandulare și celulele mezenchimale ale țesutului endometrial normal. Colorarea pozitivă a fost localizată în citoplasmă. O valoare specifică a fost utilizată pentru a calcula și analiza intensitatea expresiei imunohistochemice. Expresiile acestor două proteine în leziunile de endometrioză au fost semnificativ mai mari comparativ cu cele din țesuturile endometriale normale, iar diferențele au fost semnificative din punct de vedere statistic ( $P < 0,05$ ). Ambii markeri, SDF-1 și receptorul său CXCR4, au fost exprimați mult mai intens în leziunile de endometrioză comparativ cu țesutul endometrial normal. S-a dedus că SDF-1, prin interacțiunea sa cu receptorul CXCR4, joacă un rol semnificativ în patogeniza endometriozei, contribuind la procesul de proliferare a celulelor stromale endometriale.

**Cuvinte-cheie:** SDF-1, endometrioza, CXCR4, chemokine.

## INTRODUCERE

Endometrioza este o boală inflamatorie cronică ce afectează 10% dintre femeile de vârstă reproductivă, fiind clasificată în trei tipuri: peritoneală, ovariană și profundă (DE) [1]. Toate modificările în activarea celulelor imune, a secreției de citokine și a factorilor de creștere duc la crearea unui micromediu inflamator. În endometrioză, chemokinele joacă un rol decisiv în recrutarea constantă a celulelor imune în cavitatea peritoneală. Aceste molecule semnalizatoare atrag diverse tipuri de celule imune, cum ar fi macrofagele, limfocitele T și neutrofilele, provocând inflamația cronică specifică afecțiunii în cauză. Astfel, mediul inflamator poate susține supraviețuirea și proliferarea țesutului endometrial ectopic, agravând simptomele endometriozei [2; 3].

Chemokinele, proteine mici secretate de celule care influențează sistemul imunitar, reprezintă cea mai mare clasă de citokine, fiind indispensabile proceselor fiziologice, inclusiv patologice, stimulând migrarea celulelor imune, în special a macrofagelor și granulocitelor, prin gradienti de concentrație. Principalele surse de chemokine sunt monocitele, macrofagele și granulocitele activate; cu toate acestea, ele pot fi produse și de multe alte celule ale sistemului imunitar. Având o greutate moleculară mică, de 8-12 kDa, chemokinele sunt compuse din 70-130 de aminoacizi. În prezent, se cunosc aproximativ 50 de chemokine și 20 de receptori, dar numărul acestora continuă să crească.

Chemokinele se subdivizează în patru clase principale: chemokinele CC, chemokinele CXC, chemokinele C și chemokinele CX3C [4; 5]. Receptorii chemokinelor sunt proteine cu domeniu 7-transmembranar, care aparțin superfamiliei receptorilor cuplați G. Se știe că chemokinele promovează chemotaxia și adeziunea celulelor endoteliale ale leucocitelor, dar și a celulelor neoplastice și canceroase. S-a raportat că receptorul 4 al chemokinelor (CXCR4) și ligandul său specific, CXCL12 (cunoscut și ca factorul derivat din stromă 1 [SDF-1]), acționează într-o manieră paracrină în cancer, promovând creșterea și dezvoltarea tumorii, angiogeneza și metastazarea în țesuturile în care este exprimat CXCL12. În plus, expresia CXCR4 a fost corelată cu potențialul metastatic, severitatea bolii, riscul de recidivă și prognosticul nefavorabil în mai multe tipuri de cancer [6].

Pe baza acestor date, am emis ipoteza că axa CXCR4-CXCL12 este implicată în endometrioză prin promovarea creșterii și invaziei celulelor endometriale la locurile ectopice. Scopul studiului nostru a fost, prin urmare, de a determina nivelul expresiei proteice și localizarea SDF-1/CXCL4 în endometrio-

za extragenitală și endometrul eutopic. În plus, deoarece mediul lezional este hiperestrogenic și leziunile endometriote prezintă răspunsuri anormale la hormonii steroizi ovarieni, am emis ipoteza că dereglările homeostaziei axei CXCR4-CXCL12 pot juca un rol în endometrioză [7].

Cu toate acestea, alte chemokine pot fi implicate în procesul dat și formează împreună o rețea de chemokine implicată în menținerea inflamației în cavitatea peritoneală. Din acest motiv, am decis să evaluăm expresia imunohistochimică a markerilor axei SDF-1/CXCR4 (factorul 1 derivat din celulele stromale și receptorul chemokinic), având în vedere implicarea sa certă în procesele de invazivitate la femeile cu endometrioză [8; 9].

Axa SDF-1/CXCR4 joacă un rol esențial în procesele de invazie și metastazare ale multor tipuri de neoplasme maligne umane, fiind un mecanism important în biologia cancerului. De aceea, este firesc să se cerceteze dacă și în ce mod această axă este implicată în endometrioză, în special în formele ei extragenitale. Cercetările în direcția respectivă pot dezvălui mecanisme similare cu cele ale metastazării cancerului, având în vedere comportamentul invaziv al țesutului endometrial. Prin urmare, explorând implicarea axei SDF-1/CXCR4 în endometrioza extragenitală putem obține un model mai relevant al bolii și posibile ținte terapeutice pentru a aborda această problemă complexă [10; 11; 12].

## MATERIALE ȘI METODE

*Eșantionul de studiu.* Studiul dat a fost unul retrospectiv descriptiv, bazat pe consultarea buletinelor histopatologice și evaluarea microscopică a unui număr de 43 de cazuri de endometrioza extragenitală. Cazurile incluse în studiu au fost selectate în perioada 2011-2018, datele fiind extrase din fișele pacienților păstrate în arhivele următoarelor instituții medicale: Spitalul Clinic Municipal „Gheorghe Paladi”, Spitalul Cancelariei de Stat, Spitalul Clinic Municipal „Sfântul Arhanghel Mihail”, Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga” și Spitalul Clinic Județean de Urgență Craiova din România. Fragmentele biopsice au fost obținute în urma exciziei focarelor de endometrioza de la paciente cu vârsta cuprinsă între 19 și 56 de ani, media de vârstă fiind de 39,7±9,9 ani, iar median Md – 38,0 ani.

Protocolul de cercetare a fost aprobat de Comitetul de etică al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” în data de 16 martie 2017, proces-verbal nr. 63. Pacientele au fost informate detaliat despre studiu, au citit și semnat acordul informat, ela-

borat pentru participarea în studiu, privind tratamentul endometriozei extragenitale și utilizarea materialului biologic în cercetare.

*Materialul postoperator macroscopic* a fost fixat în soluție de formalină de 10% și trimis în secția de morfopatologie pentru examinare. Piesele fixate au fost spălate sub un jet de apă, după care au fost examinate. Fiecare caz în parte a avut un număr variabil de fragmente, în medie două fragmente cu dimensiuni variabile. Specimenele chirurgicale au fost păstrate până la stabilirea diagnosticului. Pentru fiecare caz în parte s-au efectuat investigații histologice, iar pentru diagnosticul diferențial s-au efectuat teste imunohistochimice.

*Profilul histopatologic* s-a realizat pe secțiuni colorate cu hematoxilină și eozină, conform procedurii standard. Specimenele au fost fixate în soluție de formalină tamponată 10% timp de 48 de ore și incluse în parafină după procedurile de deshidratare și clarifiere. Din fiecare bloc au fost secționat fragmente cu grosimea de 4 μm pentru colorația cu hematoxilină și eozină (HE). Pentru secționare s-a folosit microtumul HM 350. Secțiunile au fost etalate pe lame silanate Surgipath X-tra Adhesive (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK) și uscate la 37 °C timp de 20-30 de minute. Aceste lame au servit pentru determinarea prezenței țesutului endometrial ectopic și corelării acestuia cu structurile adiacente. Cazurile au fost examinate de trei morfopatologi independenți (la microscopul Nikon Eclipse 55i).

*Metoda imunohistochimică* a fost efectuată pe secțiuni deparafinate cu grosimea de 4 μm. Pentru demascarea antigenică s-a utilizat soluția Tris/EDTA, pH 9 (Dako, Code S236), secțiunile fiind incubate în baia de apă pentru 40 de minute și lăsate să se răcească timp de 20 de minute la temperatura camerei. Blocarea peroxidazei endogene s-a făcut cu soluție de peroxid de hidrogen de 3%, prin incubarea secțiunilor timp 15 minute. Blocarea nespecifică a situsurilor antigenice cu albumină serică bovină (BSA) s-a realizat într-o cameră de incubare umedă la temperatura camerei timp de o oră. Studiul imunohistochimic propriu-zis s-a efectuat printr-o metodă enzimologică cu detecție cromogenică, utilizând chitul MACH 4 MICRO-POLY-

MER-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 s-a efectuat cu hematoxilină. Anticorpii utilizați în studiu împreună cu principalele caracteristici sunt prezentați în Tabel. Controale pozitive pentru fiecare anticorp au fost selectate în conformitate cu specificațiile producătorului și indicate în Tabel.

Expresia imunohistochimică în citoplasmă (C), membrana celulară (Mc) și nucleu (N) a fost apreciată în funcție de intensitate: C+/Mc+/N+ (expresie slabă); C++/Mc++/N++ (expresie moderată); C+++ /Mc+++ /N+++ (expresie intensă).

Imaginile microscopice au fost obținute utilizând microscopul *Leica ECC50W* și programul *Leica application Suite*. Pentru studiul propus, secțiunile au fost fotografiate în regiunile de interes, cu obiectivele 100x, 200x, iar pentru cuantificare s-au realizat 4 imagini cu obiectivul 200x pentru fiecare caz. Glandele endometriale, celulele stromale și celulele sistemului inflamator au fost numărate pentru fiecare imagine în parte și s-a efectuat apoi o medie a densității și/sau celulare a cazului.

*Metode de procesare statistică a rezultatelor.* În scopul procesării statistice a materialului primar, am elaborat fișe speciale cu codificarea datelor socio-demografice, statutului obstetrical anterior, tabloului clinic, localizării leziunilor endometriozei, parametrilor histologici, explorărilor imunohistochimice (procesului de tranziție epitelio-mezenchimală (EMT) (SDF-1, CXCR4), rezultatelor investigațiilor imagistice și tipului intervenției chirurgicale efectuate. Datele din chestionare au fost transferate pe suport digital și a fost creată o bază de date pentru procesare statistică și analiză digitală ulterioară.

Materialele primare ale studiului au fost procesate la calculatorul personal cu ajutorul funcțiilor și modulelor programelor „Statistical Package for the Social Science” (SPSS) versiunea 16.0 pentru Windows (SPSS Inc., Belmont, CA, USA, 2008) și Microsoft

Tabel

Anticorpii utilizați în studiul imunohistochimic

Anticorp	Tip	Clonă	Producător	Număr de catalog	Diluție	Demascarea antigenică	Control extern pozitiv
SDF-1	Iepure, Policlonal	45-RT6	OrigGene	TA323613	1:50	0,1 M Citrate, pH6	Carcinom mamar
CXCR4	Iepure, Policlonal	HF-85R	OrigGene	P15509PU-M	1:50	0,1 M Citrate, pH6	Carcinom mamar

Office Excel 2019 prin proceduri statistice descriptive și inferențiale. Pacientele cu endometrioză extragenitală din lotul de studiu cu probe biologice recoltate au constituit unitățile statistice de analiză.

Pentru analiza comparativă a valorilor indicatorilor au fost utilizate tehnici matematico-statistice (indicatori ai seriilor dinamice, indicatori de proporție, valori medii etc.).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

### Particularitățile histopatologice ale leziunilor de endometrioză extragenitală

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

Din punct de vedere histopatologic ne-au interesat următoarele aspecte: prezența glandelor și a stromei de tip endometrial, inflamația cronică cu sau fără celule gigante, hemoragia și fibroza.

Studiul histopatologic și histochimic al endometriozei extragenitale a evidențiat glande endometriale în 32 (74,4%; 95% ÎI: 60,1-85,6) de cazuri, stroma în toate cele 43 (100,0%) de cazuri, inflamație cronică în 42 (97,7%; 95% ÎI: 89,6-99,7) de cazuri, celule gigante de tip Langhans în 13 (30,2%; 95% ÎI: 18,1-44,9) cazuri

și hemoragii în 38 (88,4%; 95% ÎI: 76,4-95,4) de cazuri (Figura 1).

La nivelul colonului focarele de endometrioza și plăgile endometrioze au fost mai des localizate la nivelul tunicii musculare și submucoasei. Acestea au fost identificate multifocal. Focare de endometrioza prezintă glande endometriale dilatate și o stromă abundentă. În interiorul focarelor și la periferie se prezintă hemoragii și inflamația cronică (Figurile 2, 3).

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, putând forma aderențe între organe și țesuturi (Figura 4)

### Evaluarea imunohistochimică a endometriozei de diferită localizare

Studiul imunohistochimic al invazivității în endometrioza extragenitală s-a derulat pe trei direcții majore, urmărindu-se investigarea potențialului intrinsec de invazivitate locală a celulelor endometriale și a stromei din componența endometriozei prin evaluarea markerilor SDF-1/CXCR4. Această investigație imunohistochimică s-a realizat în corelație cu principalele variabile de interes morfo-clinic ale pacientelor investigate, respectiv vârsta, topografia lezională.

Este important de menționat *rolul axei SDF-1/CXCR4*, având în vedere implicarea sa clară în procesele de invazie și metastazare a multor neoplasme maligne umane. La nivelul focarelor de endometrioza și în endometrul normal, reactivitatea pentru CXCR4 a fost absentă la nivelul glandelor și scăzută la nivelul celulelor inflamatorii din stroma endometriozei. În cazurile de endometrioza de la nivelul colonului, rectului, herniei inghinale, peretelui abdominal ante-

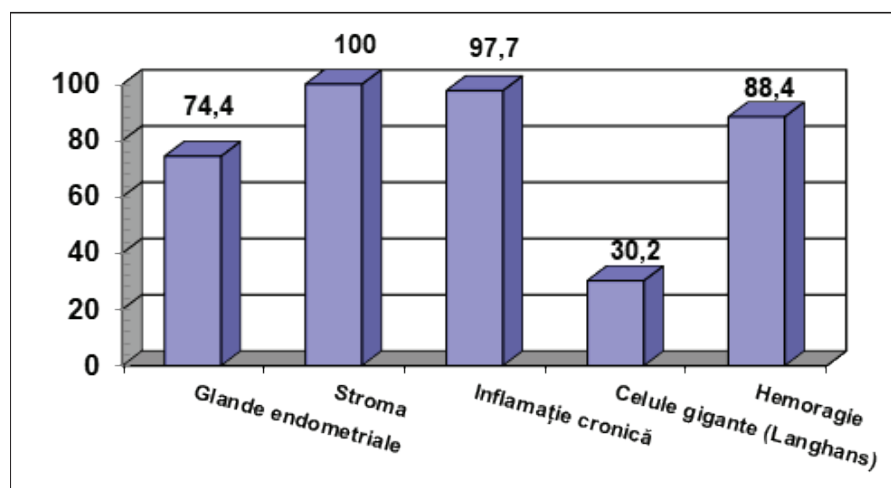
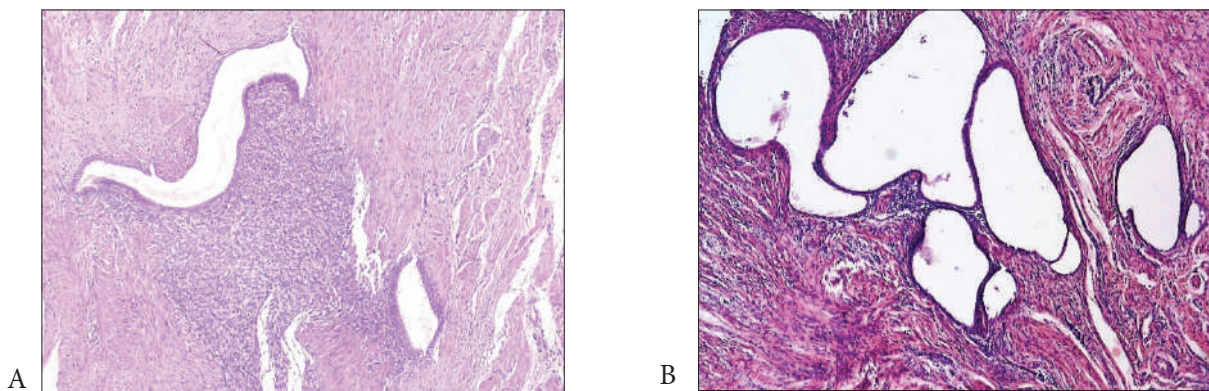
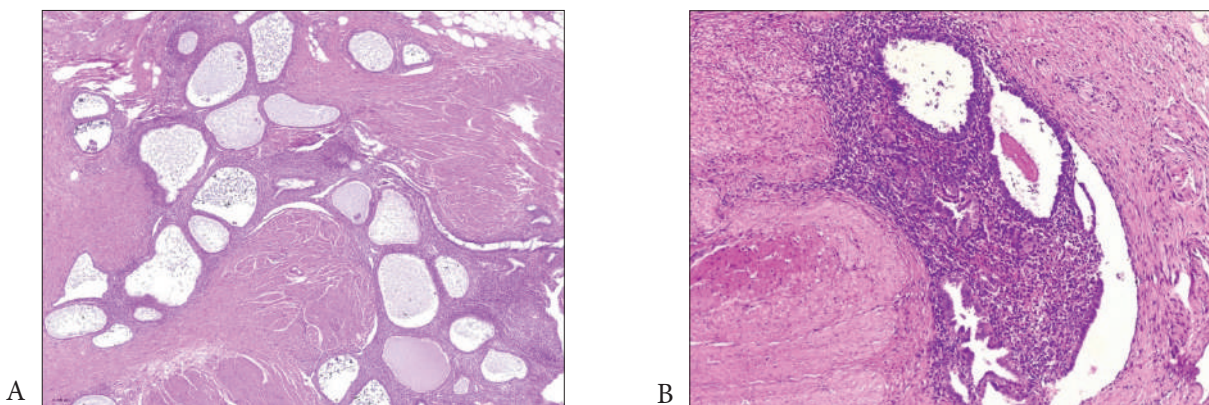


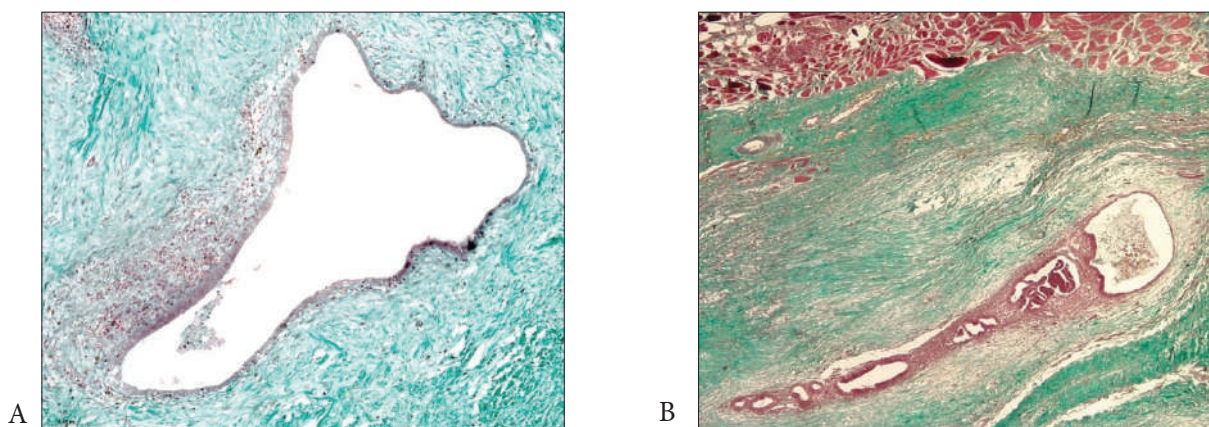
Figura 1. Modificările histopatologice în endometrioza extragenitală depistate la pacientele din eșantionul de studiu.



**Figura 2.** A – Endometrioza la nivelul apendicelui; B – Endometrioza la nivelul rectului.  
Colorație H-E, imaginea A, B × 200.



**Figura 3.** A – Endometrioza vezicii urinare; B – Endometrioza peretelui abdominal după operația cezariană.  
Colorație H-E, imaginea A, B × 200.



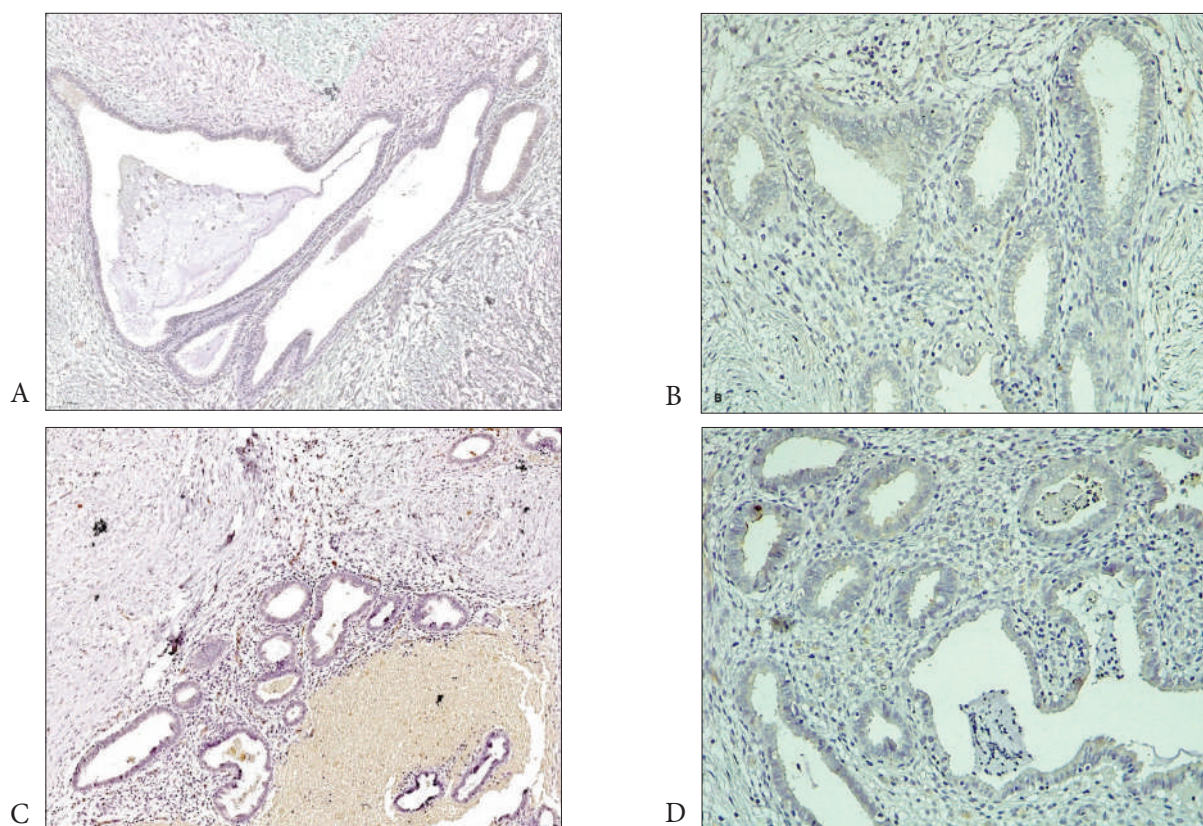
**Figura 4.** Colorația Trichrom Masson în modificarea GOLDNER – intensitatea componentei colage în stroma endometrioică: A – focar endometrioic cu deformare chistică glandulară, prezența hemosiderofagiei în stroma endometrioică, rețea fibrilară conjunctivă de densitate moderată și aranjament haotic; B – focar endometrioic ratatinat cu abundență marcată fibrilar conjunctivă și activitatea redusă a stromei endometriale. Imaginea A, B × 100.

rior a fost determinată o reactivitate slabă la nivelul infiltratelor inflamatorii. La nivelul focarelor de endometrioză am înregistrat reactivitatea pentru CXCR-4 în toate aceste cazuri investigate, ceea ce constituie 27,90%, dar scorul intensității IS a fost scăzut, valoarea medie IS fiind de 1 (Figura 5).

Reactivitatea pentru CXCR-4 a fost mai evidentă îndeosebi în cazurile cu inflamație cronică, la nivelul

acesteia reactivitatea fiind prezentă, în celelalte cazuri de endometrioză reacția a fost absentă.

Reactivitatea pentru SDF-1 a fost prezentă în celulele stromale din leziunile de endometrioză cu pattern de imunocolorare citoplasmatic și mai rar membranar, la nivelul endometrului normal reacția fiind absentă. Am înregistrat o reactivitate pentru SDF-1 în 40 de cazuri investigate (93,02%), iar scorurile intensității



**Figura 5.** Expresia receptorului CXCR-4 în endometrioza extragenitală și la nivelul endometrului normal; A – cicatrice după operația cezariană; B – endometrul normal; C – endometrioza colonică; D – endometrioza la nivelul rectului; Expresie negativă (scor 0) la nivelul stromei și celulelor endometriale. Colorație IHC-DAB,  $\times 200$ .

IS au variat între 1 și 3, valoarea medie IS a fost de  $1,37 \pm 0,6$ . Expresia markerului SDF-1 în leziunile de endometrioza a fost semnificativ mai mare decât în țesuturile endometriale normale, iar diferențele au fost semnificative sub aspect statistic (Figura 6).

Valoarea medie a scorului proporțional SDF-1 a constituit  $1,56 \pm 0,9$ ; Md – 1,0, IIQ: 1,0-2,0 (de la 0 până la 3), a scorului intensității SDF-1 –  $1,37 \pm 0,6$ ; Md – 1,0, IIQ: 1,0-2,0 (de la 0 până la 2) și a scorului total SDF-1 –  $2,93 \pm 1,0$ ; Md – 3,0, IIQ: 2,0-4,0 (de la 1 până la 5), scorului proporțional CXCR-4 –  $2,58 \pm 1,1$ ; Md – 2,0, IIQ: 2,0-3,0 (de la 1 până la 5), scorului intensității CXCR-4 –  $1,95 \pm 0,8$ ; Md – 2,0, IIQ: 1,0-2,0 (de la 0 până la 3) și scorului total CXCR-4 –  $4,56 \pm 1,6$ ; Md – 4,0, IIQ: 3,0-6,0 (de la 1 până la 8) (Figura 7). Graficul prezintă distribuția scorurilor SDF-1 și CXCR-4 la pacientele cu endometrioza extragenitală, ilustrând mai multe aspecte ale expresiei acestor markeri:

- SDF-1 Scor Proporțional și Intensitate: scorul proporțional și de intensitate pentru SDF-1 indică variații relativ mici, cu mediane apropiate și intervale intercuartilice restrânse. Scorul total pentru SDF-1 are o dispersie mai mare comparativ cu scorul proporțional și de intensitate.

- CXCR-4 Scor Proporțional și Intensitate: similar SDF-1, scorurile proporționale și de intensitate pen-

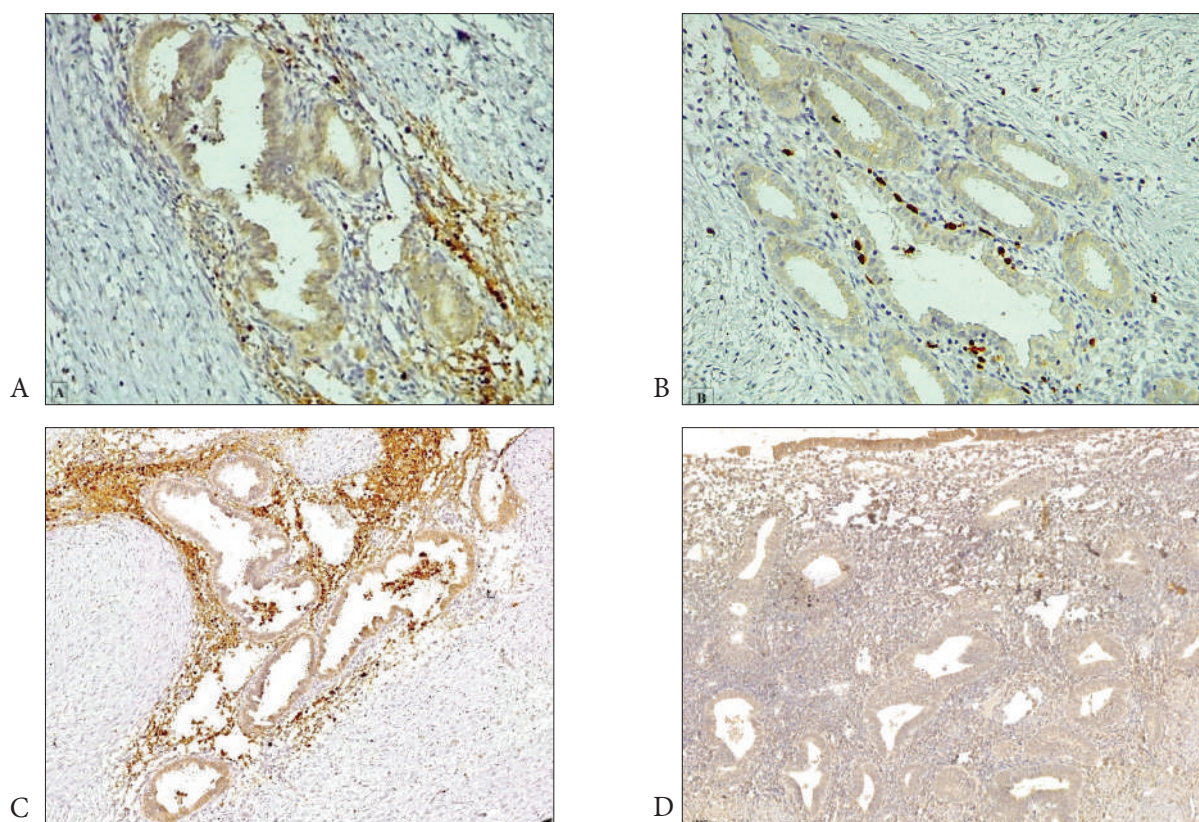
tru CXCR-4 arată variații moderate, dar cu intervale ușor mai largi. Scorul total pentru CXCR-4 prezintă cea mai mare variație, sugerând o variabilitate mai mare între pacienți în ceea ce privește expresia globală a acestui marker.

- Distribuția scorurilor SDF-1 și CXCR-4: CXCR-4 are o variabilitate mai mare comparativ cu SDF-1, mai ales în privința scorului total, indicând diferențe potențiale în rolul și expresia acestor chemokine în endometrioza extragenitală.

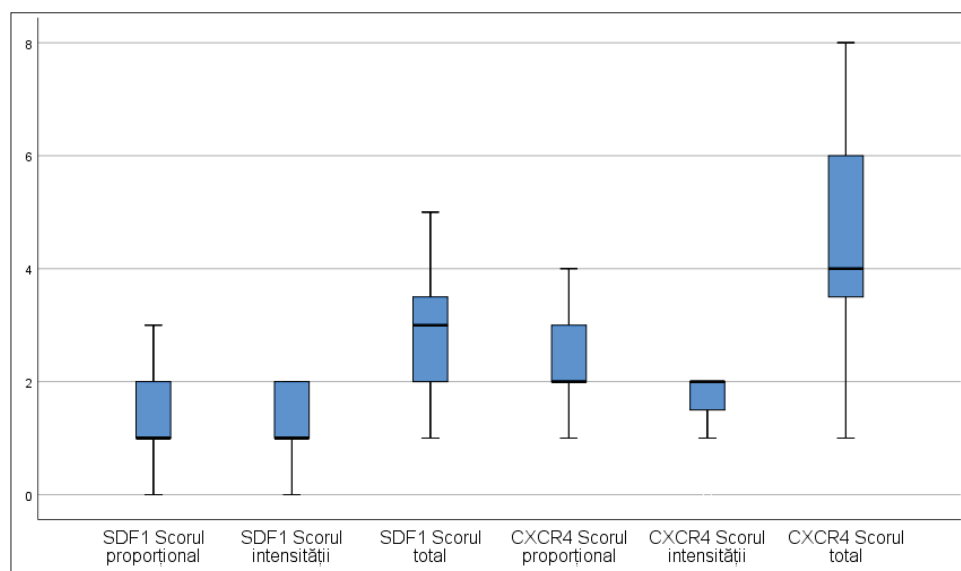
Astfel, pe de o parte, putem confirma mecanismul de implantare în locurile ectopice ale celulelor endometriale pentru niveluri ridicate ale expresiei SDF-1 în aceste țesuturi, iar pe de altă parte, putem confirma potențialul invaziv scăzut al leziunilor de endometrioza din regiunea retroperitoneală și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

Ambii markeri au fost mult mai intens exprimați în leziunile de endometrioza extragenitală ce prezintă un răspuns inflamator cronic. Factorul SDF-1 și receptorul său CXCR-4 au un rol major în patogeniza endometriozei cu un potențial moderat în procesul de invazivitate locală prin promovarea proliferării celulelor stromale endometriale.

Diagnosticul morfologic al endometriozei se bazează pe examinarea țesutului endometrial pentru a identifica prezența țesutului similar endometrial în



**Figura 6.** Expresia factorului SDF-1 derivat din celule stromale în endometrioza extragenitală și la nivelul endometrului normal: A – endometrioza granulomului de sutură. Reacție de intensitate înaltă (scor 3+) la nivelul stromei și celulelor endometriale; B – endometrioza cicatricii post-cezariene. Reacție de intensitate scăzută (scor 1+) la nivelul stromei; C – endometrioza colonică. Reacție de intensitate înaltă (scor 3+) la nivelul stromei și la nivelul glandelor. Reacție de intensitate scăzută (scor 1+) la nivelul stromei; F – endometrul normal. Expresie scăzută (scor 1+). Colorație IHC-DAB, ×200.



**Figura 7.** Valorile medii ale scorurilor expresiei SDF-1 și CXCR-4 la pacientele cu endometrioza extragenitală.

afara uterului. Studiul histopatologic și histochimic al endometriozei extragenitale la pacientele din lotul nostru de studiu a evidențiat glande endometriale în 32 (74,4%; 95% ÎÎ: 60,1-85,6) de cazuri, stroma în toate cele 43 (100,0%) de cazuri. Prezența țesutului ec-

topic induce o reacție inflamatorie, fapt confirmat și în actuala cercetare: infiltratul inflamator cronic nespecific a fost prezent în 42 (97,7%; 95% ÎÎ: 89,6-99,7) de cazuri și celule gigante de corp străin în 13 (30,2%; 95% ÎÎ: 18,1-44,9) cazuri.

Diagnosticul endometriozei se bazează pe identificarea glandelor endometriale înconjurate de o manta densă de celule stromale endometriale. Însă aceste caracteristici pot fi ascunse de hemoragie, inflamație, dilatare chistică și/sau fibroză. În asemenea împrejurări, recunoașterea endometriozei poate fi dificilă sau imposibilă, iar patologul poate constata endometrioza probabilă [13]. În ultimii ani au fost efectuate studii în vederea determinării unui biomarker al endometriozei, pentru a evita necesitatea laparoscopiei și a confirma un diagnostic timpuriu. Mai multe proteine au fost studiate în rândul femeilor cu și fără endometrioza [14].

Potențialul agresiv al leziunilor de endometrioza extragenitală, studiat prin investigarea expresiei markerilor imunohistochimici implicați în remodelarea matricei extracelulare, SDF-1, CXCR4 și a markerilor specifici procesului de tranziție epitelio-mezenchimală, este elucidat incomplet. Din acest motiv, ne-am propus studiul mai multor procese invazive, care ar putea avea un potențial rol prognostic și terapeutic în patogeneza endometriozei extragenitale [15; 16].

Este important de menționat rolul axei SDF-1/CXCR-4, având în vedere implicarea sa clară în procesele de invazie și metastazare a multor neoplasme maligne umane. Este cunoscut că CXCR4 constituie cel mai exprimat receptor chemokininic din cancerele umane și supraexpresia sa în celulele canceroase corelează cu supraviețuirea, creșterea tumorală, angiogeneza, cu un potențial ridicat de metastazare și rezistență la agenți terapeutici [17; 18].

SDF-1 și CXCR-4 au fost exprimate atât în leziunile de endometrioza, cât și în celulele epiteliale glandulare și celulele mezenchimale ale țesutului endometrial normal, localizate în citoplasmă. Expresiile ambilor markeri în leziunile de endometrioza au fost semnificativ mai mari decât în țesuturile endometriale normale, iar diferențele au fost semnificative sub aspect statistic.

Nivelurile chiar și moderate ale expresiei chemokinei SDF-1 și ale receptorului sau CXCR-4 din focarele de endometrioza vin să confirme rolurile patogene jucate de acești doi markeri mai ales în progresia acestei boli. Astfel, SDF-1, secretat de către celulele stromale, își exercită efectul proliferativ asupra epitelului prin interacțiuni paracrine cu receptorul său CXCR-4, exprimat de către celulele glandulare endometriale. Întrucât tratamentele hormonale au efecte secundare nedorite din cauza inhibării ovulației și a menstruației, iar rezistența la terapiile pe bază de progestativ este frecventă, inhibarea CXCR-4 se poate dovedi a fi o terapie mult mai ținută și mai eficientă pentru endometrioza.

## CONCLUZII

Studiul evidențiază importanța axei SDF-1/CXCR-4 în mecanismele de invazie ale endometriozei extragenitale, sugerând o potențială țintă pentru intervenții terapeutice. Efectele acestei axe asupra migrației și invaziei celulare pot explica o parte din patologia endometriozei.

Desigur, sunt necesare cercetări suplimentare pentru a valida aceste rezultate și a explora eficacitatea terapilor care ar putea bloca axa în cauză. Aceasta ar putea duce la dezvoltarea de tratamente inovative, oferind noi speranțe pentru îmbunătățirea gestionării și tratamentului endometriozei. Rezultatele sunt promițătoare și ar putea să paveze calea către opțiuni terapeutice mai eficiente în viitor.

## BIBLIOGRAFIE

1. Tokuyama, H., Tarumi, Y., Yamauchi, S., et al. Bladder rupture 11 years after partial cystectomy for bladder endometriosis: A case report and review of literature, *Case Reports*. In: *Women's Health*, vol. 44, 2024, e00657, <https://doi.org/10.1016/j.crwh.2024.e00657>
2. Leconte, S., Chouzenoux, C., Nicco, C., Chéreau, S., Arkwright, P., Santulli, B., Weill, C., Chapron, B., Dousset, F., Batteux, F. Role of the CXCL12–CXCR4 axis in the development of deep rectal endometriosis. In: *Journal of Reproductive Immunology*, vol. 103, 2014, 45-52, <https://doi.org/10.1016/j.jri.2013.12.121>
3. Ruiz, A., Salvo, V.A., Ruiz, L.A., Báez, P., García, M., Flores, I. Basal and steroid hormone-regulated expression of CXCR4 in human endometrium and endometriosis. In: *Reprod Sci*. 2010, 17(10):894-903, doi: <https://link.springer.com/article/10.1177/1933719110379920>
4. Darash-Yahana, M., Pikarsky, E., Abramovitch, R., Zeira, E., Pal, B., Karplus, R., Beider, K., Avniel, S., Kasem, S., Galun, E., Peled, A. Role of high expression levels of CXCR4 in tumor growth, vascularization, and metastasis. In: *FASEB J*. 2004, 18(11):1240-2, doi: <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1096/fj.03-0935fj>
5. Smycz-Kubańska, M., Kondera-Anasz, Z., Sikora, J., Wendlocha, D., Królewska-Daszczynska, P., Englisz, A., Janusz, A., Janusz, J., Mielczarek-Palacz, A. The Role of Selected Chemokines in the Peritoneal Fluid of Women with Endometriosis – Participation in the Pathogenesis of the Disease. In: *Processes*, 2021, 9, 2229, <https://doi.org/10.3390/pr9122229>
6. Ruiz, A., Ruiz, L., Colón-Caraballo, M., Torres-Collazo, B.J., Monteiro, Janice B., Bayona, M., Fazleabas, A.T., Flores, I. Pharmacological blockage of the CXCR4-CXCL12 axis in endometriosis leads to contrasting effects in proliferation, migration, and invasion. In: *Biology of Reproduction*, vol. 98, Issue 1, January 2018, 4-14, <https://doi.org/10.1093/biolre/iox152>
7. Furusato, B., Mohamed, A., Uhlén, M., Rhim, J.S. CXCR4 and cancer. In: *Pathol Int.*, 2010 Jul, 60(7):497-505, <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2010.02548.x>

8. Tal, A., Tal, R., Kliman, H.J., Taylor, H.S. Loss of Cxcr4 in Endometriosis Reduces Proliferation and Lesion Number while Increasing Intraepithelial Lymphocyte Infiltration. In: *Am J Pathol.* 2021 Jul, 191(7):1292-1302, doi: 10.1016/j.ajpath.2021.04.011
9. Saare, M. *Molecular Profiling of Endometriotic Lesions and Endometria of Endometriosis Patients.* University of Tartu, 2016. 94 p.
10. Ouyang, Z., Sun, J.P., Tian, X.L., Chen, M.X., Zhai, J.J. [The expressions and the roles of SDF-1/CXCR-4 and SDF-1/CXCR-4 in human endometriosis]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2018 Jun 19, 98(23):1854-1858. Chinese, doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.23.010
11. Shi, X., Xu, W., Sun, Y., Dai, H., Wang, X. [Expression of stromal cell-derived factor-1 in endometriosis by steroid receptor coactivators on steroid hormone]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2014 Feb, 49(2):114-9. Chinese.
12. Shi, X., Xu, W., Dai, H.H., Sun, Y., Wang, X.L. The role of SRC1 and SRC2 in steroid-induced SDF1 expression in normal and ectopic endometrium. In: *Reproduction.* 2014 Jun, 147(6):847-53, doi: 10.1530/REP-14-0027.
13. Vigano, P., Candiani, M., Monno, A., Giacomini, E., Vercellini, P., Somigliana, E. Time to redefine endometriosis including its pro-fibrotic nature. In: *Hum Reprod.* 2018, 33(3): 347-352.
14. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. ESHRE Endometriosis Guideline Development Group. 2013. 96 p.
15. Guerriero, S., Ajossa, S., Pagliuca, M., Borzacchelli, A., Deiala, F., Springer, S. et al. *Advances in Imaging for Assessing Pelvic Endometriosis.* In: *Diagnostics (Basel).* 2022, 12(12): 2960.
16. Akihiro Tsutsumi, Hidetaka Okada, Tsuyoshi Nakamoto, Rika Okamoto, Katsuhiko Yasuda, Hideharu Kanazaki. Estrogen induces stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12) production in human endometrial stromal cells: a possible role of endometrial epithelial cell growth. *Fertility and Sterility*, vol. 95, Issue 1, 2011, 444-447, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.08.037>
17. Chen, M., Zhou, Y., Xu, H., Hill, C., Ewing, R., He, D., et al. Bioinformatic analysis reveals the importance of epithelial-mesenchymal transition in the development of endometriosis. In: *Sci Rep.*, 2020, 10(1): 8442.
18. Glace, L., Grygielko, E.T., Boyle, R., Wang, Q., Laping, N.J., Sulpizio, A.C., Bray, J.D. Estrogen-induced stromal cell-derived factor-1 (SDF-1/Cxcl12) expression is repressed by progesterone and by Selective Estrogen Receptor Modulators via estrogen receptor  $\alpha$  in rat uterine cells and tissues. *Steroids*, vol. 74, Issues 13-14, 2009, 1015-1024, <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2009.07.011>



Valentina Rusu Ciobanu. *Sibila II*, 1985, tempera pe pânză, 70 × 50 cm (colecția familiei).