

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
COALA DOCTORAL
DOMENIUL ANATOMIE PATOLOGIC**

***STUDIUL ONCOGENEZEI CARCINOAMELOR SEROASE
OVARIENE CU GRAD ÎNALT DE MALIGNITATE***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. SAJIN MARIA

Student-doctorand:

POPA MANUELA

ANUL 2019

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

Introducere.....	19
Partea general	
1. No iuni de anatomia i histologia ovarului.....	22
2. Patologia tumoral ovarian – generalit i i epidemiologie.....	27
3. Spectrul tumorilor ovariene seroase –benigne, borderline i maligne.....	30
4. Teorii în oncogeneza carcinoamelor ovariene seroase cu grad înalt de malignitate – stadiul actual al cunoa terii.....	33
5. Imunohistochimia i testarea genetic în carcinoamele ovariene seroase cu grad înalt de malignitate.....	36
6. Conexiuni cu alte localiz ri ale carcinoamelor seroase la nivelul aparatului genital feminin i peritoneal.....	41
7. Conexiuni cu localiz ri extragenitale ale carcinoamelor seroase.....	43
8. Carcinomul seros testicular la b rba i – similitudini i diferen e cu carcinomul seros ovarian.....	44
9. Principii generale de tratament în carcinomul seros ovarian de grad înalt.....	45
Partea special	
1. Motiva ia temei.....	48
2. Scopul i obiectivele studiului.....	49
3. Metodologia studiului.....	50
4. Studiul I – Analiza morfologic a carcinoamelor ovariene seroase high-grade - metodologie, rezultate i discu ii.....	51
5. Studiul II – Studiu imunohistochimic i corela ii clinico-morfo-histochimice asupra procesului oncogenetic al carcinoamelor ovariene seroase high-grade - metodologie, rezultate i discu ii.....	86
6. Concluzii i contribu ii personale.....	134
Bibliografie.....	138
Anexe.....	154

INTRODUCERE

Carcinomul ovarian seros cu grad înalt de malignitate reprezintă o patologie importantă în rândul femeilor de toate vârstele, deși este considerat că având predilecție pentru perioada postmenopauzei, există numeroase rapoarte de cazuri la paciente tinere, în perioada reproductivă.

Datele actualizate de Organizația Mondială a Sănătății în 2014 (WHO Classification, 4th Edition) arată că tumorile maligne epiteliale ovariene au o incidență de 225000 cazuri noi anual și sunt responsabile de 140000 decese pe an, la nivel global, iar dintre acestea majoritatea este reprezentată de tipul carcinoamelor seroase de grad înalt (high-grade). Acestea reprezintă a doua cauză importantă de morbiditate și mortalitate în rândul populației de sex feminin.

Caracterizarea carcinoamelor ovarine seroase high-grade și identificarea unor modele de origine sunt elemente importante pentru elucidarea patogenezei moleculare a cancerului, iar acest lucru are implicații deosebite în dezvoltarea metodelor de screening și de tratament precoce.

Până recent, carcinoamele ovariene seroase reprezentau o singură entitate patologică, dar studiile din ultimii ani au furnizat noi informații în ceea ce privește încadrarea lor, iar actualmente ele sunt considerate ca apar înănd unor entități diferite, după un model dual: carcinoame seroase cu grad scăzut de malignitate (low-grade serous carcinoma) și carcinoame seroase cu grad înalt de malignitate (high-grade carcinoma), în funcție de caracteristicile histologice tumorale, gradul atipiei nucleare, de prezența modificărilor moleculare și genetice.

În ceea ce privește patogeneza tumorilor epiteliale seroase high-grade, lucrurile sunt mai puțin cunoscute; datorită agresivității lor, a rapidității cu care se dezvoltă, leziunile precursorare nu au putut fi identificate și stabilite cu certitudine, și implicit procesul de carcinogeneză este mai dificil de înțeles, iar studiul oncogenezei acestor tumori maligne este de actualitate și în continuă dezvoltare pe plan mondial.

Lucrarea de față își propune abordarea tematicii privitoare la dezvoltarea carcinoamelor ovariene seroase de grad înalt, studiind îndeaproape caracterele histopatologice, anatomo-clinice și imunohistochimice relevante și cunoscând corelații semnificative statistice, și propune pe baza observațiilor sale o perspectivă nouă asupra

procesului oncogenetic, neexcluzând, desigur, datele și observațiile altor cercetări din domeniu.

Teza este structurată în două părți: partea generală ce cuprinde stadiul actual al cunoașterii, conținând 9 capitole, în care am trecut în revistă succint noțiuni de bază referitoare la anatomia, histologia ovarului, epidemiologia și patologia spectrului tumorilor ovariene seroase, histologia, imunohistochimia și principii de tratament în carcinoamele ovariene seroase high-grade și am integrat, ca element de noutate, date referitoare la tumori seroase cu alte localizări, precum și tumorile seroase ale gonadei masculine – prin analogie.

Pentru partea specială am utilizat pentru cercetare loturi de studiu din cazurile de carcinoame ovariene seroase de grad înalt înregistrate la Spitalul Universitar de Urgență București, în perioada 2013-2015, precum și cazuri de alte tumori ovariene seroase (\pm ovar contralateral normal) și o tumoră borderline mucinoasă pentru alcătuirea lotului martor. Studiul este structurat în două sub-studii: Studiul I – Analiza morfologică a carcinoamelor ovariene seroase high-grade, unde am evaluat mai mulți parametri: clinici, macroscopici și microscopici ai tumorilor maligne seroase de grad înalt și Studiul II – Studiu imunohistochimic și corelații clinico-morfo-histochimice asupra procesului oncogenetic al carcinoamelor ovariene seroase high-grade, în care prin marcat imunohistochimic am evaluat expresia CD44, AR, ER, Ki67, WT1, p53, CD20, CD3, CD8, CD4, vimentin și am efectuat corelații morfo – imunohistochimice în cadrul lotului studiu și prin comparație cu lotul martor. Rezultatele obținute au fost discutate în raport cu datele de actualitate din literatura de specialitate.

Am identificat expresia markerului CD44 în tumorile high-grade, și am clasificat, înțind conținutul de expresia acestuia la nivelul lotului de studiu, în două categorii mari, : „expresie aberantă” și ”pozitivitate focală”; în prima clasă am inclus „pozitiv difuz” și negativ și am obținut corelații între CD44 cu expresie aberantă și: extensia tumorală extraovariană, prezența focală, sub 10% a receptorilor de androgen, cu prezența focală, sub 10% simultan pentru receptorii de androgen și a receptorilor de estrogen, cu indexul de proliferare Ki67 peste 80%, cu creșterea numărului de celule CD44 pozitive în epiteliul salpingian. Am observat expresia CD44 difuză în celulele corpului galben și în celulele luteale restante din corpul albicans. Pentru tumorile high-grade CD44 negative am remarcat prezența unor celule peritumorale CD44 pozitive, non-epiteliale, non-fibroblastice și fără expresie de markeri uzuali limfocitari.

Aceste concluzii ne-au conferit o nouă perspectivă asupra unui potențial factor-cheie în dezvoltarea carcinoamelor ovariene seroase cu grad înalt de malignitate, reprezentat de aceste celule peritumorale, CD44 pozitive, non-epiteliale, non-fibroblastice, non-limfocitare, ele putând reprezenta variante modificate ale oricăror dintre categoriile enumerate, al cărui rol rămâne de studiat pe mai departe, dacă ele au un rol protector anti-tumoral sau din contră, reprezintă factori promotori sau favorizanți pentru invazivitatea tumorală și care aparent prezintă o conexiune, cel puțin structurală, cu celulele luteale de corp galben proprii ovarului.

Pentru această patologie rămâne o cauză importantă de morbiditate și mortalitate în rândul femeilor, studiile ulterioare pentru depistarea unor noi factori cheie ori aprofundarea unora deja enunțați sunt întotdeauna necesare, pentru prevenirea, depistarea și obținerea unor tratamente eficiente, cu atât mai mult cu cât cancerul este o patologie în dinamică și poate ajunge la rezistență terapeutică.

SINTEZA TEZEI DE DOCTORAT

PARTEA GENERAL

Partea general a tezei, cuprinzând stadiul actual al cunoașterii, este structurată pe 9 capitole și cuprinde informații de actualitate obținute din publicații, ghiduri naționale și internaționale, cărți, capitole și articole din literatura de specialitate în domeniu.

Capitolul 1 - **Noțiuni de anatomia și histologia ovarului** prezintă informații generale legate de conformația, structura, histologia, raporturile, vascularizația și inervația ovarelor, precum și modificările fiziologice survenite în funcție de etapa de viață a femeii, reprezentate de modificări histologice și functionale apărute pentru îndeplinirea funcțiilor: reproductivă și endocrină a gonadelor feminine.

Capitolul 2 - **Patologia tumorală ovariană – generalități și epidemiologie** prezintă pe scurt principalele tipuri de tumori ovariene și datele epidemiologice existente în literatura de specialitate în legătură cu acestea.

Capitolul 3 - **Spectrul tumorilor ovariene seroase –benigne, borderline și maligne** tratează detaliat tipurile de tumori ovariene seroase, care prezintă interes deosebit pentru tema lucrării de față.

Capitolul 4 - **Teorii în oncogeneza carcinoamelor ovariene seroase cu grad înalt de malignitate – stadiul actual al cunoașterii** reprezintă un capitolul care reunește teoriile vehiculate până în prezent cu privire la originea carcinoamelor ovariene seroase de grad înalt.

Capitolul 5 - **Imunohistochimia și testarea genetică în carcinoamele ovariene seroase cu grad înalt de malignitate** își propune trecerea în revistă a celor mai folosiți și cunoscuți markeri imunohistochimici precum și teste genetice utilizate pentru diagnosticul tumorilor epiteliale maligne de tip seros, high-grade.

Capitolul 6 - **Conexiuni cu alte localizări ale carcinoamelor seroase la nivelul aparatului genital feminin și peritoneal** abordează această patologie de la nivelul aparatului reproducător feminin cât și peritoneal și realizează o comparație prin evaluarea caracteristicilor comune și a diferențelor dintre acestea și localizarea ovariană.

Capitolul 7 - **Conexiuni cu localizări extragenitale ale carcinoamelor seroase** reprezintă un capitol aparte, care reunește acest spectru al carcinoamelor seroase cu diverse localizări de la nivelul întregului organism.

Capitolul 8 - **Carcinomul seros testicular la bărbați – similitudini și diferențe cu carcinomul seros ovarian** constituie un element de noutate și încearcă să realizeze o paralelă pentru practic același tip histologic de tumoră, cu localizare gonadală, însă mult mai rară la nivelul gonadei masculine.

Prin Capitolul 9 - **Principii generale de tratament în carcinomul seros ovarian de grad înalt** am dorit trecerea în revistă a principalelor strategii terapeutice pentru tumorile ovariene și îndeosebi pentru carcinoamele seroase cu grad înalt de malignitate, și am prezentat atât abordarea clasică cât și terapiile alternative, inovatoare, care pot fi particularizate în funcție de caz și de stadiul bolii.

Prin această structurare și prin ideile abordate am dorit constituirea unui studiu clinicomorfologic complex, realizat printr-o abordare multidisciplinară, pentru obținerea unei imagini de ansamblu asupra acestei patologii maligne, dar și detaliate și întinse histopatologic, pentru înțelegerea complexității și caracteristicilor sale.

PARTEA SPECIAL

1. Motiva ia temei

Carcinoamele ovariene seroase de grad înalt sunt tumori agresive, cu morbiditate și mortalitate importante în rândul femeilor. De multe ori asimptomatice sau cu simptome minore în stadii incipente, pacientele sunt diagnosticate în stadii avansate de boală și greu de tratat, cu rezecția completă dificilă sau uneori imposibilă.

Am ales această temă deoarece de multă vreme patologia a fost considerată mult timp caracteristică perioadei de postmenopauză, tot mai multe cazuri au fost raportate în literatura de specialitate la femei tinere, iar metode de screening eficiente nu au putut fi prompt implementate, tocmai datorită faptului că modelul de dezvoltare tumoral nu este cunoscut, cu toate că de-a lungul timpului mai multe ipoteze au fost descrise. De asemenea, dobândirea rezistenței la tratamentul chimioterapic face din acest tip de malignitate încă o dată un adversar de temut, dacă putem spune așa.

Caracterizarea carcinoamelor ovarine seroase high-grade și identificarea unor modele de origine sunt elemente importante pentru elucidarea patogenezei moleculare a cancerului, iar acest lucru are implicații deosebite în dezvoltarea metodelor de screening și de tratament precoce.

2. Scopul și obiectivele studiului

Studiul de față își propune realizarea unei analize clinico-morfologice complexe a carcinoamelor ovariene seroase cu grad înalt de malignitate, care să ne ofere perspective noi în alegerea procesului lor oncogenetic. În vederea îndeplinirii acestui scop, am împărțit studiul în două părți: Studiul I – Analiza morfologică a carcinoamelor ovariene seroase high-grade și Studiul II – Studiu imunohistochimic și corelații clinico-morfo-histochimice asupra procesului oncogenetic al carcinoamelor ovariene seroase high-grade.

Obiectivele studiului:

- Evaluarea carcinoamelor ovariene seroase high-grade în funcție de caracteristicile lor macroscopice și microscopice: dimensiunea componentei solide, patternul histologic de creștere, atipiile citologice, indexul mitotic, gradul de extensie tumorală, necroza tumorală, prezența/absența tumorii pe suprafața ovariană, prezența/absența implantelor peritoneale, extensia salpingiană și extraanexială, statusul ganglionilor limfatici loco-regionali;

- Corelații ale caracteristicilor descrise cu bilateralitatea/unilateralitatea tumorală ;

- Evaluarea expresiei imunohistochimice a markerului CD44 la nivelul celulelor tumorale și la nivelul salpingelui în cazurile de carcinoame ovariene seroase high-grade;

- Evidențierea prezenței derivatelor de structuri foliculare proprii ovarului cu potențial rol în dezvoltarea tumorală ;

- Analiza rolului factorilor imunoreglatori reprezentați de limfocitele intratumorale: limfocite T CD3+, limfocite B CD4+, limfocite B CD8+;

- Evaluarea achiziției elementelor mezenchimale de către celulele canceroase

- Analiza morfo-imunohistochimică a carcinoamelor ovariene seroase de grad înalt în corelație cu prezența receptorilor hormonalilor.

3. Metodologia studiului

Am realizat un studiu analitic, descriptiv și retrospectiv al pacientelor diagnosticate cu carcinoame ovariene seroase cu grad înalt de malignitate, în perioada 2013-2015, la Spitalul Universitar de Urgență București. Datele au fost colectate din foile de observație clinică, din registrele cu rezultate histopatologice ale Departamentului de Anatomie Patologică și din baza de date electronică a spitalului.

Studiul nostru este structurat în două părți: Studiul I – Analiza morfologică a carcinoamelor ovariene seroase high-grade și Studiul II – Studiu imunohistochimic și corelații clinico-morfo-histochimice asupra procesului oncogenetic al carcinoamelor ovariene seroase high-grade.

Pentru Studiul I am folosit un lot studiu alcătuit din 31 cazuri, cuprinzând toate pacientele diagnosticate în spitalul nostru cu carcinom ovarian seros de grad înalt, în perioada 2013-2015, iar pentru Studiul II am utilizat un lot studiu compus din 20 de cazuri de carcinoame ovariene seroase de grad înalt și un lot martor alcătuit din 9 cazuri, enumerate aleatoriu, cuprinzând: 4 cazuri de carcinom ovarian seros low-grade, 1 caz de tumoră ovariană borderline seroasă, 1 caz de tumoră ovariană borderline mucinoasă, 2 cazuri de chistadenom ovarian seros și 1 caz cu ovar de aspect macro și microscopic normal, din piesă de histerectomie totală cu anexectomie bilaterală la o pacientă diagnosticată cu leiomiome uterine multiple și chistadenom ovarian seros contralateral; atât lotul studiu cât și lotul martor au inclus paciente diagnosticate în perioada 2013-2015, la Spitalul Universitar de Urgență București.

Pentru examinarea și evaluarea cazurilor s-au folosit: colorație uzuală Hematoxilin-Eozin, colorații specifice imunohistochimice, microscop Nikon E100 LED, microscop Olympus CX23, microscop Leica DM750 cu sistem de achiziție a imaginilor Leica ICC50 HD și software Leica Application SuiteX versiunea 3.0.2. Datele au fost prelucrate statistic în programele Epi Info 7 și Microsoft Office Excel 2013.

4. Studiul I

Analiza morfologică a carcinoamelor ovariene seroase high-grade

Scop

Scopul studiului I a fost realizarea unei clasificări morfologice a carcinoamelor ovariene seroase de grad înalt, pe baza caracteristicilor histopatologice, care să ne ofere perspective noi în înțelegerea procesului lor oncogenetic complex.

Obiective

- Evaluarea carcinoamelor ovariene seroase high-grade în funcție de caracteristicile lor macroscopice și microscopice: dimensiunea componentei solide, patternul histologic de creștere, atipiile citologice, indexul mitotic, gradul de extensie tumorală, necroza tumorală, prezența/absența tumorii pe suprafața ovariană, prezența/absența implantelor peritoneale, extensia salpingiană și extraanexială, statusul ganglionilor limfatici loco-regionali;

- Corelații ale caracteristicilor descrise cu bilateralitatea/unilateralitatea tumorală.

Metodologia studiului

Pe baza informațiilor obținute din registrele de Anatomie Patologică și sistemul informatic al spitalului, am identificat un număr de 31 de cazuri de carcinoame ovariene seroase de grad înalt în perioada 2013-2015. Până la apariția ediției 2014 a recomandărilor Organizației Mondiale a Sănătății de diagnostic și clasificare pentru tumorile aparatului reproducător feminin, carcinoamele seroase ovariene constituiau o singură clasă, fără a fi divizate în high-grade și low-grade; am analizat toate cazurile de carcinoame ovariene seroase din această perioadă, și le-am reclasificat, conform noilor recomandări, acolo unde a fost cazul, folosind preparatele microscopice permanente executate în colorație uzuală Hematoxilin-Eozin, cu identificarea celor 31 cazuri de carcinoame seroase de grad înalt pe care le-am constituit ca lot de studiu. Caracteristicile microscopice au fost revizuite și reevaluate la microscopul optic Nikon E100 LED, microscop Olympus CX23, microscop Leica DM750 cu sistem de achiziție a imaginilor Leica ICC50 HD și software Leica Application SuiteX versiunea 3.0.2, iar caracterele macroscopice, pentru pacientele diagnosticate anterior anulului începerii studiului, au fost preluate din bazele de date disponibile. Analiza statistică a fost asistată de programele Microsoft Office Excel 2013 și Epi Info 7. Nivelul de semnificație statistică adoptat a fost de 5%, cu interval de încredere de 95%, iar valoarea semnificației statistice (p) a fost calculată folosind testul Fisher.

Rezultate i discu ii

Vâsta medie a pacientelor cu carcinoame seroase de grad înalt a fost de 62.2 ani, iar extremele de vârstă au fost: minim 36 ani, maxim 83 ani. Valoarea vârstei medii este apropiat de cea descris de literatura de specialitate, de 63 ani, acest tip de tumor malign fiind mai frecvent întâlnit în postmenopauz , dar au fost raportate i cazuri de carcinom seros high-grade la vârste mai tinere, în plin perioad reproductiv [1, 2, 3]. În cadrul tumorilor maligne ovariene, femeile diagnosticate cu carcinoame seroase au o vârst medie de 65 ani, cu carcinoame mucinoase de 60 ani, cu carcinoame endometrioide de 69 ani, cu carcinoame cu celule clare de 58 ani, cu tumori de granuloas – tipul adult de 60 ani, cu carcinoame mixte sero-mucinoase de 31 ani, cu carcinoame pleomorfe nediferen iate de 75 ani, iar cele diagnosticate cu tumori secundare ovariene de 60 ani [4].

Majoritatea pacientelor care s-au prezentat la spital pentru diagnostic au provenit din mediul urban (74.19%). Cancerul ovarian se caracterizeaz printr-o inciden crescut în regiunile dezvoltate, cum ar fi Europa Central i de Est, America de Nord i o inciden a mai sc zut în Asia i Africa [5, 6]. De i în literatura de specialitate nu am g sit referiri cu privire la caracterul epidemiologic din mediul urban versus mediul rural, studiile migra ionale sugereaz implicarea componentei de mediu, prin inciden e asem n toare mai degrab cu locul de imigra ie decât cu cel de emigra ie [5].

Cel mai frecvent simptom întâlnit în rândul pacientelor cu carcinoame ovariene seroase de grad înalt a fost durerea abdominal . Acest simptom este într-adev r, una din cele mai frecvente manifest ri clinice, îndeosebi pentru stadiile avansate, al turi de distensia abdominal i prezen a ascitei [5, 7].

Din 31 cazuri de carcinoame ovariene seroase de grad înalt (Figurile 4.1 4.6), 45.16% au fost tumori bilaterale, iar 54.84% au fost tumori unilaterale. Procentul de tumori bilaterale este mai mic decât cel raportat în literatura de specialitate, unde majoritatea atât pentru carcinoamele de grad înalt, cât i pentru cele de grad sc zut este reprezentat de localizarea anexial bilateral cu 84%, respectiv 74-77% [1, 8]. Totu i localizarea bilateral la nivelul ovarelor este mai frecvent decât localizarea bilateral salpingian [9].

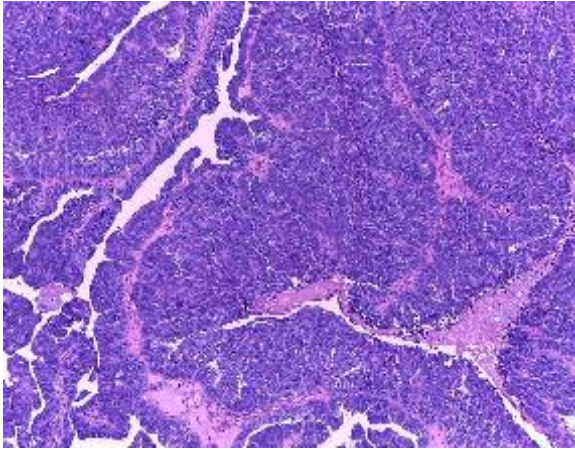


Figura 4.1. Carcinom seros HG- arii solide i micropapilare

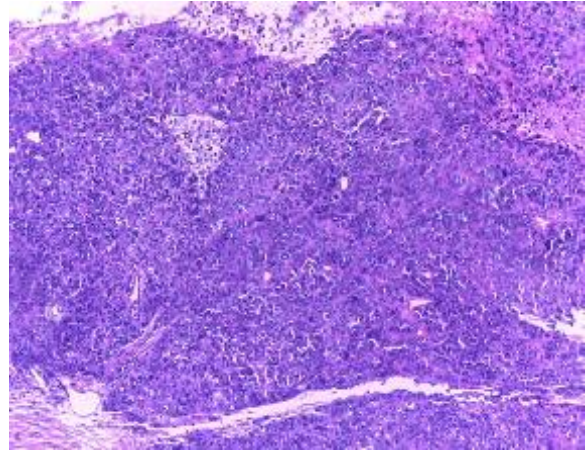


Figura 4.2. Carcinom seros HG – arii solide , H.E x 10

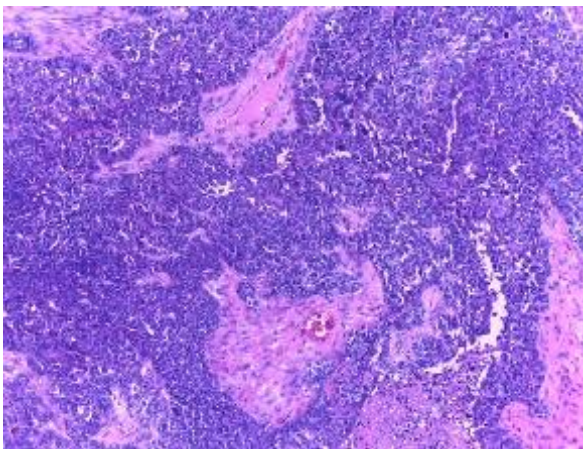


Figura 4.3. Carcinom seros HG – arii solide i pseudofante, H.E x 10

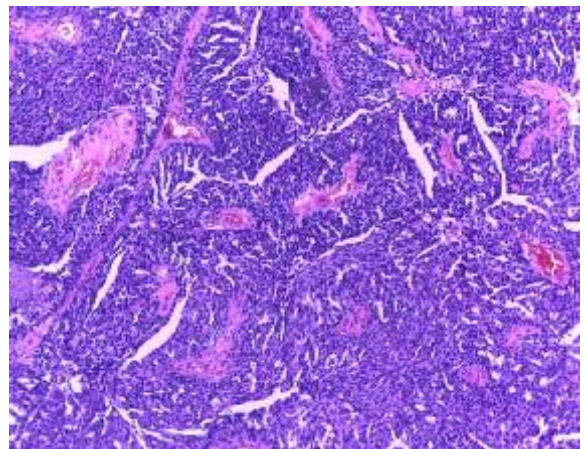


Figura 4.4. Carcinom seros HG – arii papilare i solide, H.E x 4

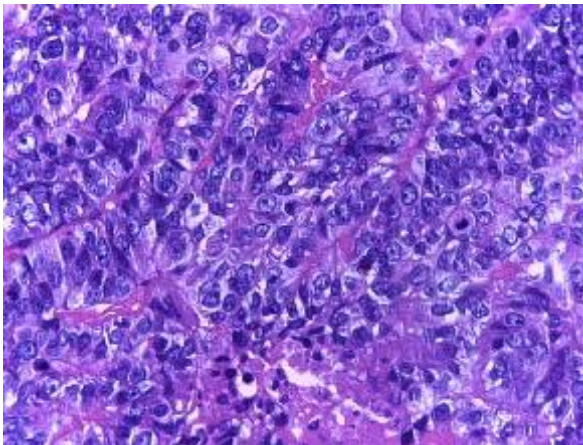


Figura 4.5. Carcinom seros HG – mitoze atipice , H.E x 40

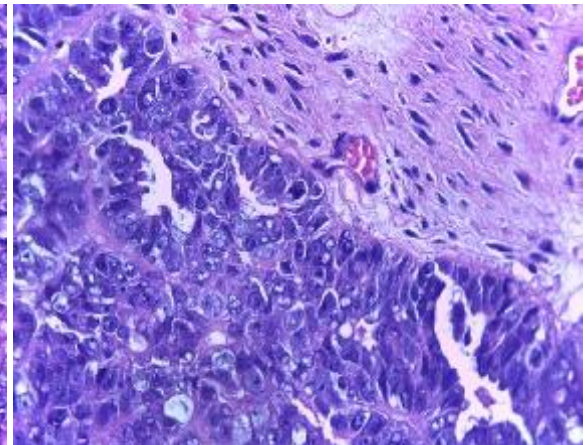


Figura 4.6. Carcinom seros HG – pleomorfism nuclear i mitoze. H.E x 40

Din evaluarea cazurilor studiate am obținut: 19.35% din cazuri cu tumora limitată la nivelul ovarului și 80.65% reprezentând stadii cu extensie extra-ovariană dovedită. Am identificat prezența implantelor peritoneale în 16 cazuri, extensie uterină în 7 cazuri (Figura 4.7), un caz cu extensie transperitoneală gastrică (Figura 4.8) și un caz cu metastaze extra-abdominale (pleurale). Majoritatea pacientelor cu carcinom seros de grad înalt se prezintă în stadii avansate, datorită puțimei simptomelor din stadiile precoce, cât și caracterului lor non-specific, simptomatologia devenind zgomotoasă odată cu progresia bolii [10, 11].

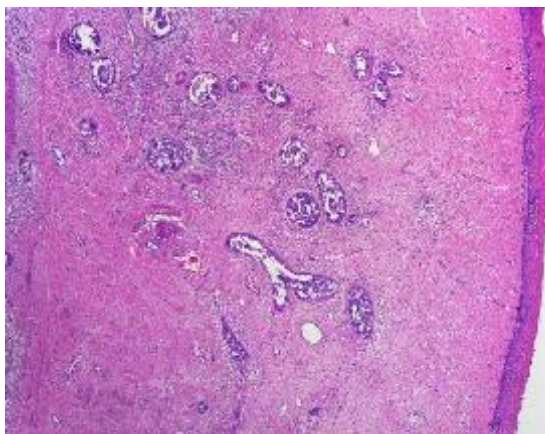


Figura 4.7. Invazie tumorală de carcinom seros HG la nivelul colului uterin, H.E x 4

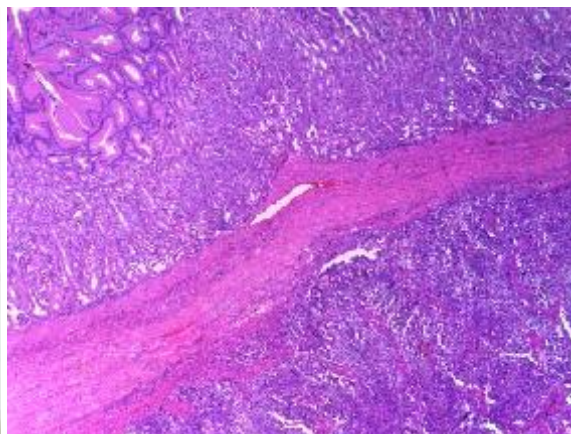


Figura 4.8. Invazie tumorală de carcinom seros HG la nivelul peretelui gastric, H.E x 4

Dimensiunea tumorală maximă a fost de 20 cm în diametru, iar minimă de 2 cm. Aadar, variabilitatea mrimii tumorale este mare, așa cum a mai fost raportat în literatură [1, 5].

Din cele 31 de cazuri, 11 cazuri au prezentat componentă solidă în proporție de peste 95%, 16 cazuri componentă solidă variabilă între 50 și 95% și 4 cazuri au prezentat componentă chistică-lichidiană în procent de peste 50%. Am observat că prezența componentei solide în procent de peste 95% și extensia extraovariană sunt caracteristici care se corelează cu bilateralitatea tumorală – Tabelul 4.1.

Total	Componentă solidă >95%	Componentă solidă variabilă între 50-95%	Componentă chistică-lichidiană >50%
31	11	16	4

Tabelul 4.1. Evaluarea componentei solide versus chistice-lichidiene

Din identificarea parametrilor microscopici pentru tumora primară (formarea de papile tumorale, indexul mitotic, prezența corpurilor psammomatoase, necroza extinsă versus

focal) am constatat următoarele: cele mai multe tumori HG se caracterizează de un raport formare papile/plaje tumorale solide cuprins între de 1:3 și 1:5 (32.25% din cazuri) – Tabelul 4.2, majoritatea tumorilor HG (45.16% din cazuri) au un index mitotic evaluat cuprins între 30-59 mitoze/10HPF – Tabelul 4.3, prezența corpilor psammomatoși în doar 9.68% din cazuri, spre deosebire de alte date din literatură [12], 51.61% din cazuri au prezentat necroză tumorală extinsă – Figura 4.9, iar despre statusul ganglionilor limfatici loco-regionali (Figura 4.10), din cele 18 cazuri în care acestea au putut fi evaluate, 5 cazuri au prezentat invazie limfoganglionară, iar 13 cazuri limfoganglionarii examinate nu au prezentat invazie tumorală. Nu s-a observat o asocierie semnificativă statistic a invaziei limfoganglionare cu prezența bilateralității.

Raport papile/plaje tumorale solide	>1:2	1:2– 1:3	1:3-1:5	>1:5
Nr cazuri	4	8	10	9

Tabelul 4.2. Raportul formare de papile/plaje tumorale solide

Index mitotic	12-29 mitoze/10HPF	30-59 mitoze/10HPF	60 mitoze/10HPF
Nr cazuri	6	14	11

Tabelul 4.3. Evaluarea indexului mitotic în carcinoamele ovariene seroase HG

Salpingele adiacente au prezentat extensie tumorală în 51.61% din cazuri – Figura 4.11. Prezența tumorii cu localizare endoluminală, aparent cu conexiune la nivelul epiteliului salpingian, împreună cu prezența concomitentă a carcinomului la nivel ovarian, pune în discuție problematica originii tumorale [13, 14].

Cele mai multe metastaze peritoneale (68.75%) confirmate microscopic au fost cu dimensiuni de peste 2 cm în diametrul maxim, obținând clasificarea stadială pT3c – Figura 4.12.

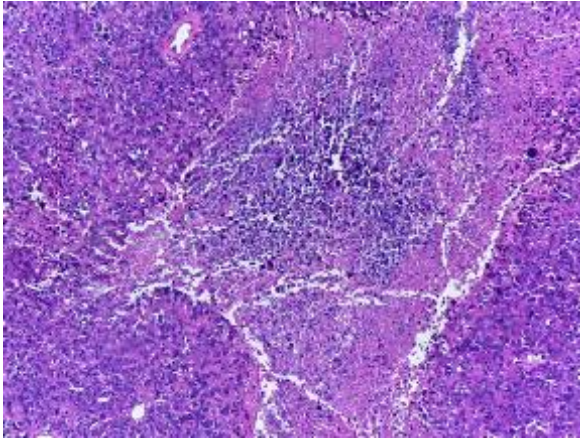


Figura 4.9. Carcinom seros HG – necroz tumoral extins . H.E x 10

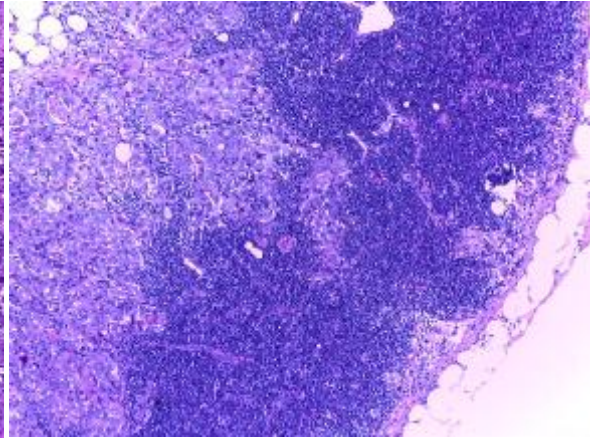


Figura 4.10. Invazie limfoganglionar de carcinom seros HG. H.E x 10

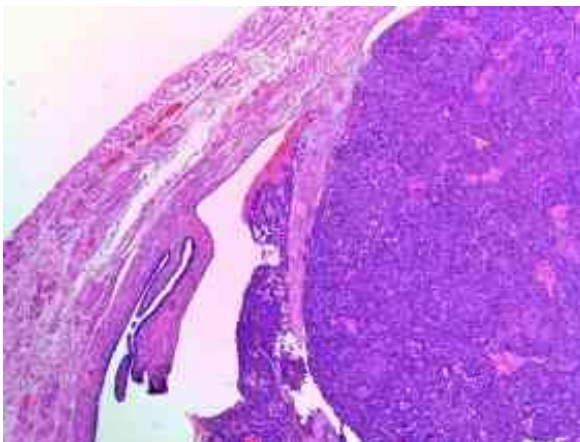


Figura 4.11. Carcinom seros HG la nivelul salpingelui, H.E x 4

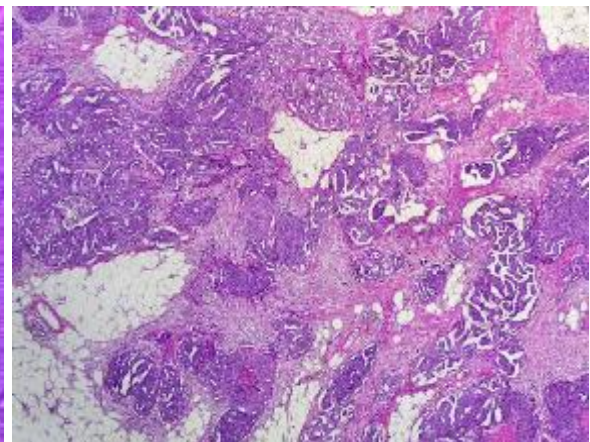


Figura 4.12. Invazie omental de carcinom seros HG, H.E x 4

De i caracterele macroscopice i microscopice sunt descrise frecvent în studiile asupra acestei entit i patologice, cu aspecte de forma iuni solide sau multiloculare chistice cu arii papilare, arii de necroz i hemoragie i mitoze atipice numeroase, studiul nostru aduce un element de noutate prin cuantificarea acestor detalii morfologice i ob inând astfel o descriere detaliat a caracteristicilor tumorale [1, 5, 15].

5. Studiul II

Studiu imunohistochimic și corelații clinico-morfo-histochimice asupra procesului oncogenetic al carcinoamelor ovariene seroase high-grade

Scop

Scopul studiului II a fost analiza imunohistochimică în corelație cu morfologia și datele clinice pentru cazurile de carcinoame ovariene seroase de grad înalt, cu evidențierea în surșirilor principale care caracterizează inițierea, promovarea și progresia carcinogenetică.

Obiective

- Evaluarea expresiei imunohistochimice a markerului CD44 la nivelul celulelor tumorale și la nivelul salpingelui în cazurile de carcinoame ovariene seroase high-grade;
- Evidențierea prezenței derivatelor de structuri foliculare proprii ovarului cu potențial rol în dezvoltarea tumorală;
- Analiza rolului factorilor imunoregulatori reprezentați de limfocitele intratumorale: limfocite T CD3+, limfocite B CD4+, limfocite B CD8+;
- Evaluarea achiziției elementelor mezenchimale de către celulele canceroase
- Analiza morfo-imunohistochimică a carcinoamelor ovariene seroase de grad înalt în corelație cu prezența receptorilor hormonalți.

Metodologia studiului

Am realizat un studiu analitic folosind un lot de studiu alcătuit din 20 de cazuri de carcinoame ovariene seroase de grad înalt, selecționate aleatoriu din cele 31 de cazuri înregistrate la Spitalul Universitar de Urgență București în perioada 2013-2015 și un lot martor alcătuit din 9 cazuri, compus din: 4 cazuri de carcinom ovarian seros low-grade, 1 caz de tumor ovarian borderline seros, 1 caz de tumor ovarian borderline mucinos, 2 cazuri de chistadenom ovarian seros și 1 caz cu ovar de aspect macro și microscopic normal, din piesă de histerectomie totală cu anexectomie bilaterală la o pacient diagnosticat cu leiomiome uterine multiple și chistadenom ovarian seros contralateral. Datele clinice și macroscopice au fost obținute din registrele de Anatomie Patologică și sistemul informatic al spitalului; s-au folosit pentru examinare preparatele microscopice

permanente executate în colora ie Hematoxilin-Eozin și blocurile de parafin pentru care s-au executat colora ii imunohistochimice folosind:

- CD44 - anticorp monoclonal (oarece), clona BC8, dilu ia 1:150-1:300 (Biocare Medical);
- Ki67 - anticorp monoclonal (iepure), clona SP6, dilu ia 1:100-1:200 (Biocare Medical);
- WT1 - anticorp monoclonal (oarece), clona BC.6FH2, dilu ia 1:50-1:100 (Biocare Medical);
- p53 - anticorp monoclonal (oarece), clona DO-7, dilu ia 1:50-1:100 (Biocare Medical);
- ER (estrogen receptor) - anticorp monoclonal (iepure), clona SP1, dilu ia 1:50-1:100 (Biocare Medical);
- AR (androgen receptor) - anticorp monoclonal (oarece), clona AR441, dilu ia 1:50-1:100 (Biocare Medical);
- CD3 - anticorp monoclonal (iepure), clona EP41, dilu ia 1:50-1:100 (Biocare Medical);
- CD20 - anticorp monoclonal (oarece), clona L26, dilu ia 1:75-1:150 (Biocare Medical);
- CD4 - anticorp monoclonal (oarece), clona BC/1F6, dilu ia 1:25-1:50 (Biocare Medical);
- CD8 - anticorp monoclonal (oarece), clona SP16, dilu ia 1:50-1:100 (Biocare Medical);
- VIM (vimentin) - anticorp monoclonal (oarece), clona V9, dilu ia 1:300-1:600 (Biocare Medical).

Cazurile au fost analizate utilizând microscopul optic Nikon E100 LED, microscop Olympus CX23, microscop Leica DM750 cu sistem de achizi ie a imaginilor Leica ICC50 HD și software Leica Application SuiteX versiunea 3.0.2, iar analiza statistic a datelor s-a realizat cu ajutorul programelor Epi Info 7 și Microsoft Office Excel 2013. Nivelul de semnifica ie statistic adoptat a fost de 5%, cu interval de încredere de 95%, iar valoarea semnifica iei statistice (p) a fost calculat folosind testul Fisher.

Rezultate i discu ii

Vârsta medie a pacientelor cu tumori ovariene seroase de grad înalt din lotul de studiu (HG) a fost de 60.7 ani, iar în lotul de control (C) de 50.6 ani. Acestea sunt valori apropiate de valorile raportate de Organiza ia Mondial a S n t ii, unde vârsta medie pentru pacientele cu carcinoame seroase de grad înalt a fost de 63 ani, iar pentru celelalte entit i s-au raportat: pentru pacientele cu carcinoame seroase de grad sc zut cu o decad mai devreme decât pacientele cu tumori high-grade, pentru cazurile de tumori seroase borderline vârsta medie de 45 ani, pentru chistadenoame de 40-60 ani, iar pentru tumorile mucinoase borderline de 40-49 ani [1].

Din lotul de studiu de 20 de cazuri de tumori seroase de grad înalt, 10 cazuri au fost tumori bilaterale, iar 10 cazuri tumori unilaterale.

În ceea ce prive te extensia tumoral , în lotul de studiu 80% din cazuri au prezentat extensie extra-ovarian , iar în 20% din cazuri tumora a fost limitat la nivelul ovarului.

În grupul carcinoamelor seroase high-grade am identificat expresia markerului CD44 în celulele tumorale: pozitiv difuz în 20% din cazuri, pozitiv focal în 50% din cazuri i negativ în 30% din cazuri (Figurile 5.1 5.6). În grupul de control, toate cazurile au prezentat pozitivitate focal tumoral (100%), inclusiv cazurile de carcinoame seroase de grad sc zut (LG) [16].

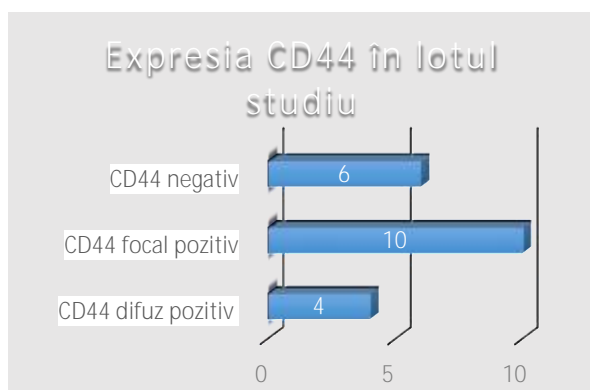


Figura 5.1. Expresia CD44 în celule tumorale din lotul de studiu

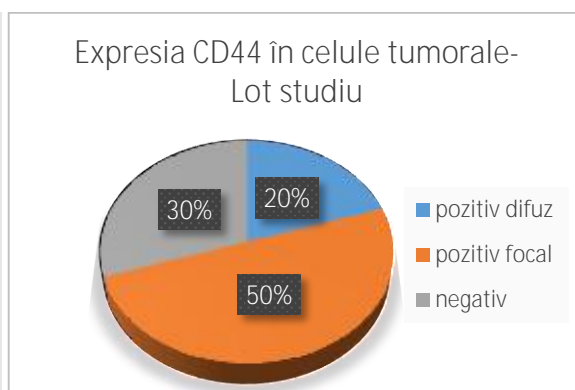


Figura 5.2. Expresia procentual a lui CD44 la nacientele cu carcinoame seroase HG

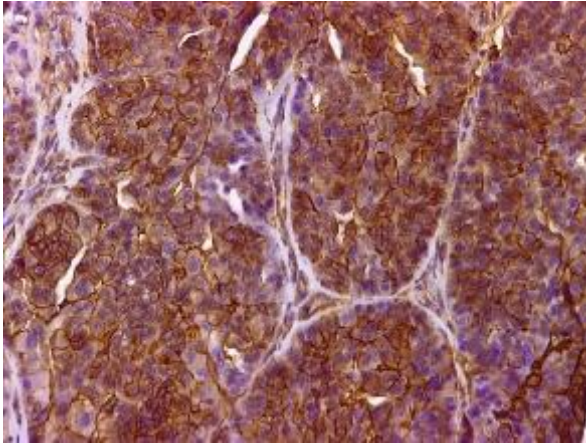


Figura 5.3. CD44 pozitiv difuz, IHC x 20

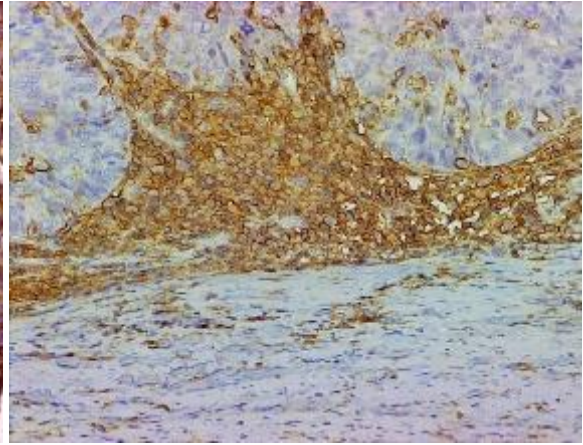


Figura 5.4. CD44 negativ în tumor , negativ în fibroblaste, pozitiv difuz în celule peritumorale, IHC x 20

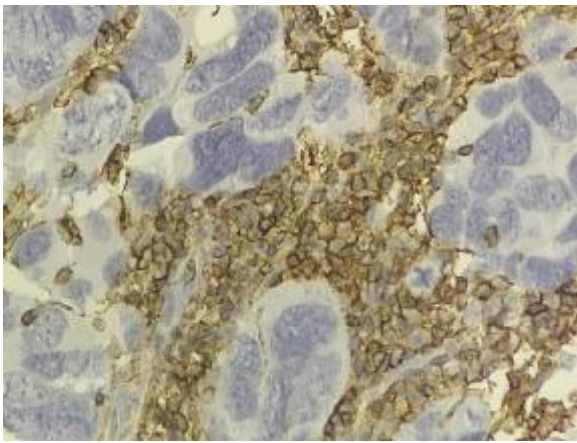


Figura 5.5. CD44 negativ în tumor , pozitiv difuz în celule peritumorale, IHC x 40

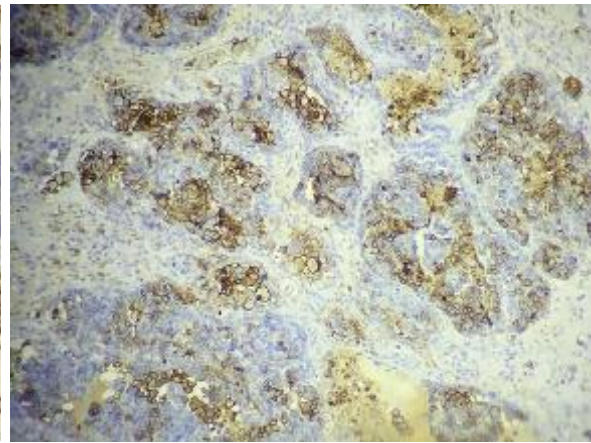


Figura 5.6. CD44 pozitiv focal în tumor , IHC x 20

CD44 de la nivelul celular este o glicoprotein transmembranar cu rol în diviziunea celular , adeziune, migra ie și semnalizare celular și reprezintă receptor celular pentru moleculele de acid hialuronic [17]. Deasemenea CD44 a fost descris ca marker de celule stem sau celule epiteliale stem-like, precum celule peg salpingiene [17, 18]. Studii efectuate anterior pe diferite tipuri de malignități epiteliale au arătat că exprimă CD44, inclusiv carcinoamele ovariene, însă rolul acestuia a fost disputat, în corelație cu supraviețuirea și apariția metastazelor, unele considerând expresia pe celulele tumorale asociate cu un prognostic bun, alte studii demonstrând însă asocierea cu un prognostic nefavorabil [19].

Am reclassificat expresia markerului CD44 în carcinoamele de grad înalt și am încadrat ca expresie tumorală aberantă cazurile difuz pozitive împreună cu cele negative și am încadrat separat cazurile focal pozitive (Figura 5.7). Nu am mai găsit această clasificare propusă în literatura de specialitate pentru markerul CD44 și am folosit acest lucru ca

element de originalitate pentru studiul de față și am obținut corelații statistice detaliate în cele ce urmează.

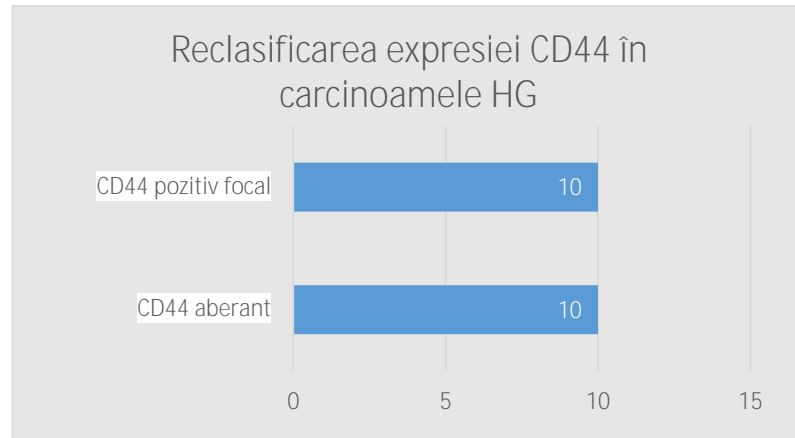


Figura 5.7. Reclasificarea expresiei CD44 în carcinoamele HG

CD44 cu expresie aberant tumoral (pozitiv difuz sau negativ) se asociază cu prezența carcinoamele HG ($p=0.0002$) și de asemenea cu extensia extraovarian tumoral în carcinoamele HG ($p=0.043$), respectiv cu extensia intraperitoneală ($p=0.034$).

În lotul carcinoamelor seroase de grad înalt, am obținut expresie $<10\%$ din celulele tumorale pentru AR în 65% din cazuri și expresie de peste 10% în 35% din cazuri (Figura 5.8), iar expresia ER a fost de sub 10% din celulele tumorale în 45% din cazuri, respectiv de peste 10% din celulele tumorale în 55% din cazuri (Figura 5.9). Expresia aberant CD44 nu se asociază cu expresia scăzut sub 10% a receptorilor pentru androgen AR ($p=0.17$), dar se asociază cu expresia scăzut sub 10% a receptorilor pentru estrogen ER ($p=0.034$). Expresia aberant CD44 se asociază cu expresia scăzut sub 10% simultan a receptorilor pentru androgen (AR) și estrogen (ER) în tumorile HG ($p=0.034$).

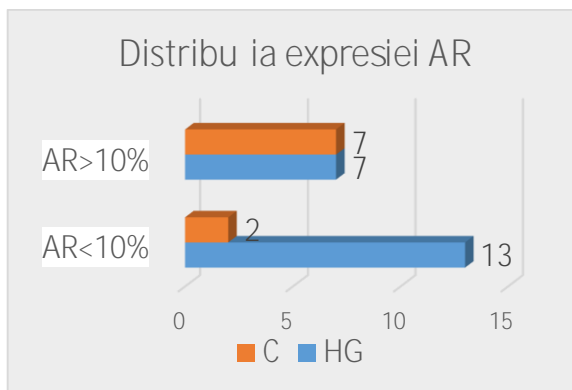


Figura 5.8. Distribuția expresiei AR în lotul de studiu (HG) și în lotul martor (C)

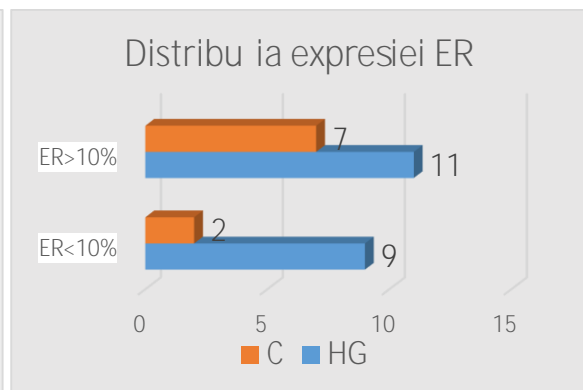


Figura 5.9. Distribuția expresiei ER în lotul de studiu (HG) și în lotul martor (C)

AR < 10% se corelează cu prezența tumorilor HG ($p=0.04$), în timp ce ER < 10% nu se corelează cu prezența tumorilor HG ($p=0.22$). Expresia crescută a receptorilor pentru androgen în carcinoamele seroase a fost asociată cu creșterea supravieuirii pacienților, iar răspunsul la terapia anti-androgenică este mai bun în fazele timpurii de boală, când numărul receptorilor este crescut, iar efectul chimioterapiei nu a fost încă instalat [20, 21]. Asemănător cu expresia receptorilor de androgen, expresia receptorilor de estrogen a fost asociată cu un prognostic îmbunătățit, deși nu toate studiile au putut confirma acest lucru [22, 23]. Atunci când proliferarea tumorală este extinsă și afectează concomitent ovarele și uterul, originea tumorii poate fi dificil de stabilit pentru cazurile cu expresie crescută a receptorilor pentru estrogen, dar folosirea unui panel extins de markeri imunohistochimici ajută la stabilirea corectă a localizării primare [24].

CD44 aberrant se asociază cu Ki67 > 80% ($p=0.028$), în timp ce AR < 10% nu se asociază cu Ki67 > 80% ($p=0.15$). CD44 aberrant nu se corelează cu bilateralitatea tumorilor HG ($p=0.5$).

CD44 pozitiv (difuz și focal) nu se asociază cu stadiul tumoral avansat pT ($p=0.34$), spre deosebire de studiul lui Lin J și Ding D publicat în 2017, care au găsit corelație statistic între pozitivitatea pentru CD44 și stadiul pTNM avansat [25].

Am analizat expresia CD44 la nivelul epiteliului salpingian în carcinoamele seroase de grad înalt, și am obținut 14 cazuri pozitive, dintre care 4 cazuri cu pozitivitate difuză (Figura 5.10) și 10 cazuri cu pozitivitate focală și am obținut o asociere statistică a celulelor CD44 pozitive difuz în salpinge cu CD44 pozitiv difuz în celulele tumorale în carcinoamele HG ($p=0.0009$). La pacientele din lotul de control, s-a observat doar pozitivitate focală pentru epiteliul salpingian, pe celule non-ciliate (Figura 5.11).

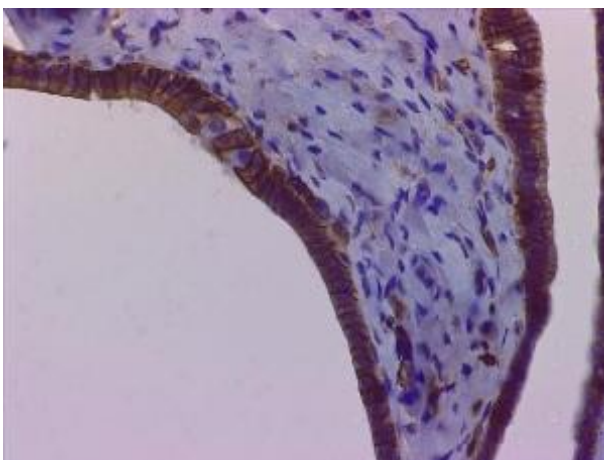


Figura 5.10. CD44 pozitiv difuz în celulele non-ciliate ale salpingelui, la pacient cu carcinom ovarian seros HG, IHC x 40

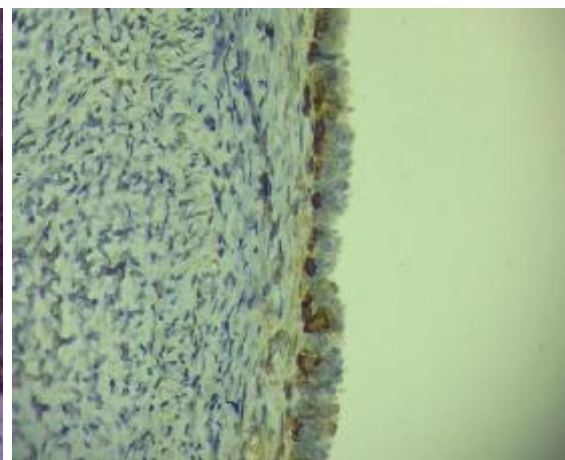


Figura 5.11. CD44 pozitiv focal în celule non-ciliate ale salpingelui, la pacient cu chistadenom ovarian seros. IHC x 20

Am observat expresia CD44 difuz în celule corpului galben într-un caz de carcinom seros de grad înalt, cu celule tumorale CD44 negative [26], dar și în corpul galben la pacient cu chistadenom seros ovarian homolateral precum și contralateral, și în celulele luteale restante din corpul albicans, ceea ce ar putea sugera implicarea celulelor luteale în dezvoltarea carcinoamelor ovariene seroase high-grade (Figurile 5.12 – 5.17).

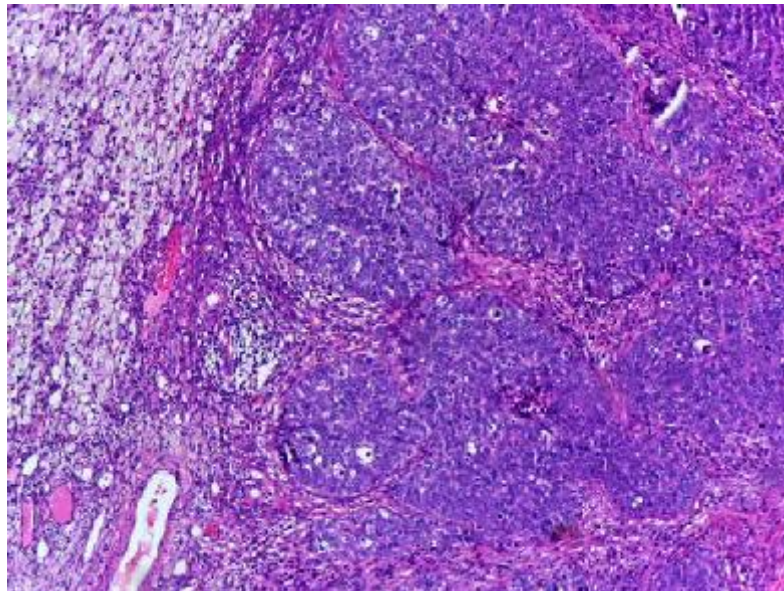


Figura 5.12. Carcinom ovarian seros HG și adiacent corp galben, H.E x 10

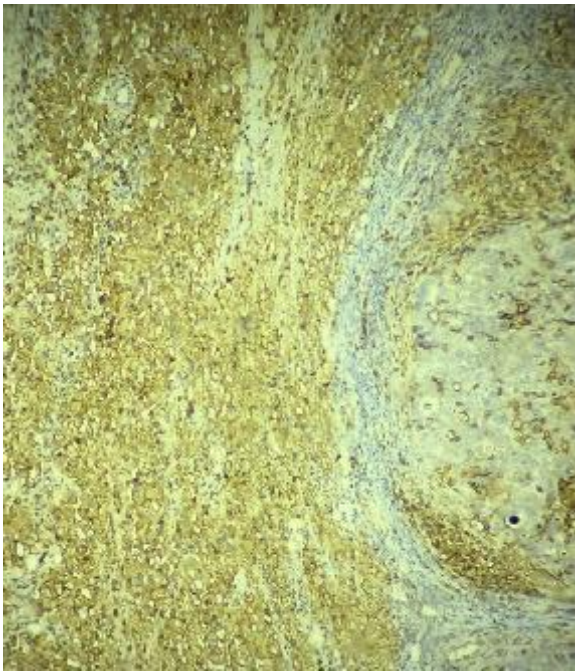


Figura 5.13. CD44 negativ în tumor , pozitiv difuz în celulele luteale, IHC x 10

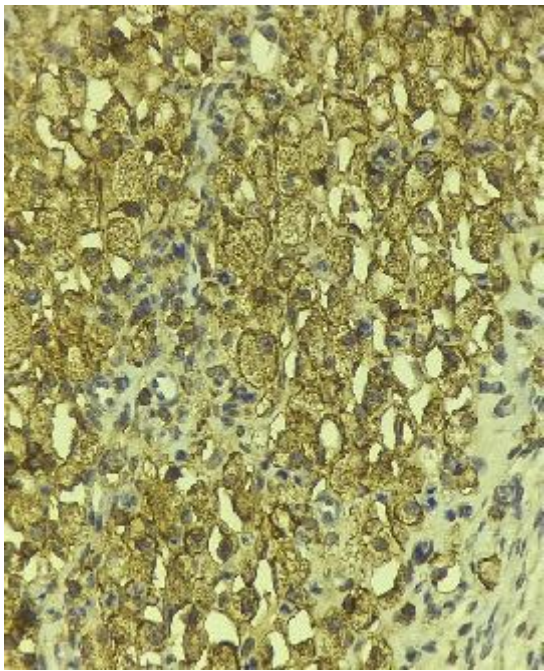


Figura 5.14. CD44 negativ în tumor , pozitiv difuz în celulele luteale, IHC x 40

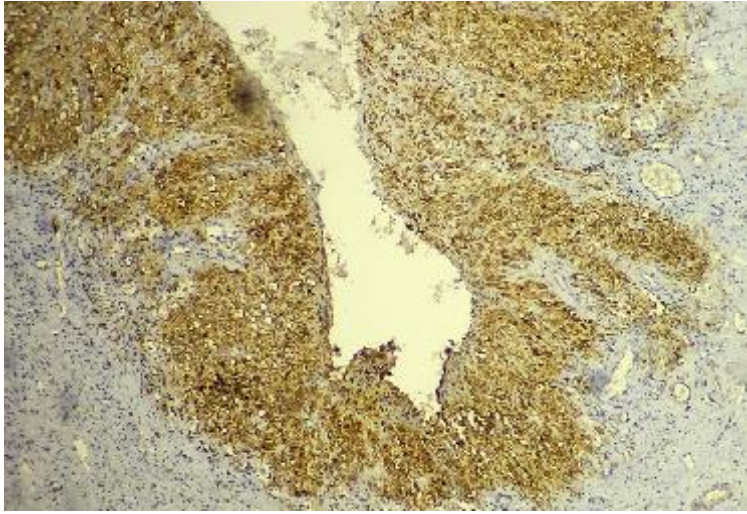


Figura 5.15. CD44 pozitiv difuz în celulele luteale de corp galben, ovar cu chistadenom ovarian seros, IHC x 10

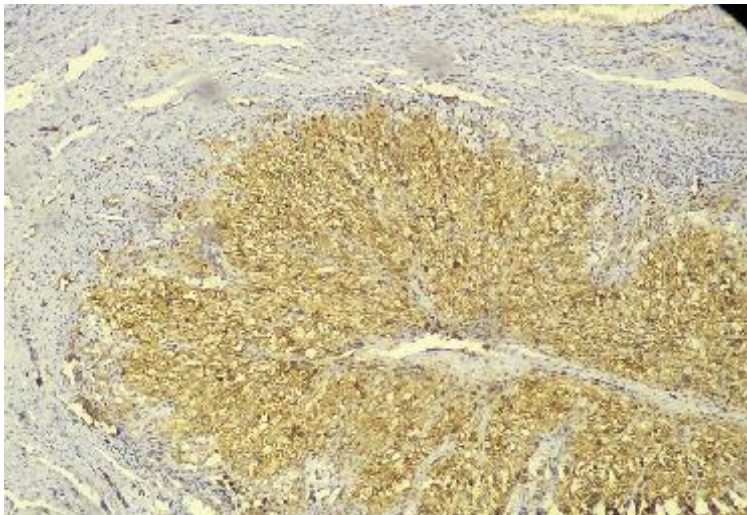


Figura 5.16. CD44 pozitiv difuz în celulele luteale de corp galben, ovar normal la pacient cu chistadenom ovarian seros contralateral, IHC x 10

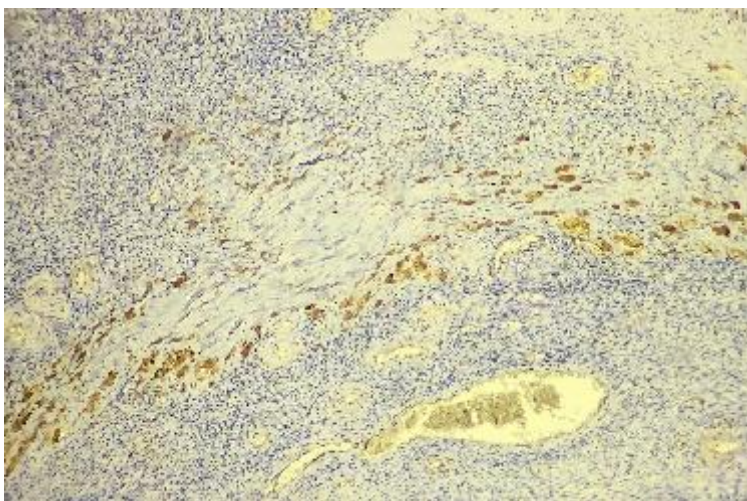


Figura 5.17. CD44 pozitiv în celulele luteale restante din corp albicans, ovar normal la pacient cu chistadenom ovarian seros contralateral, IHC x 10

Expresia lui Ki67 în lotul de studiu al carcinoamelor seroase de grad înalt a fost variabil și exprimat de observator procentual, în valori cuprinse între 40% și peste 80% - Figura 5.18. Expresia nucleară a lui Ki67 în lotul martor a fost de asemenea variabilă, cu valori cuprinse între 2% și 60% - Figura 5.19. În studiul efectuat de Chen M și colaboratorii, un studiu de tip cohort în populația chineză la paciențe cu carcinoame ovariene seroase de grad înalt, variabilitatea indexului Ki67 este mare, cu valori cuprinse între 3% și 95%, iar expresia sub 40% a fost asociată cu rezistență la terapia cu platinice și cu o supraviețuire mai redusă [27]. Însă cele mai multe studii raportează o supraviețuire redusă la paciențele cu carcinoame și index Ki67 crescut spre deosebire de cele cu index redus [28].

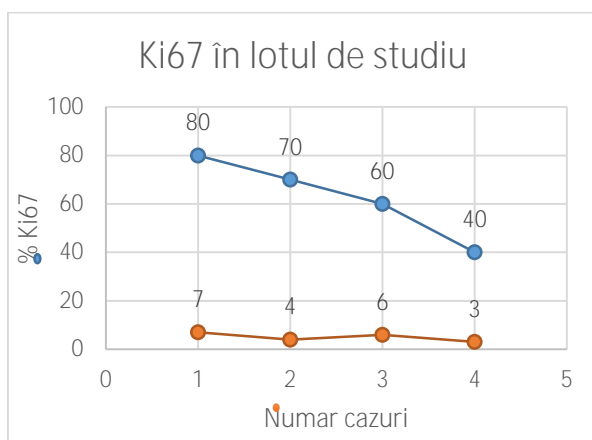


Figura 5.18. Expresia nucleară a lui Ki67 în lotul de studiu

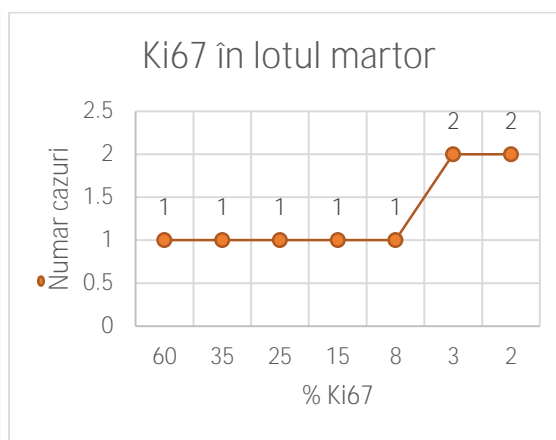


Figura 5.19. Expresia lui Ki67 în lotul martor

În cazul carcinoamelor ovariene de grad înalt din lotul studiat am identificat imunohistochimic vimentina pozitiv în celulele luteale de corp galben, în fibroblastele stromale, negativ / pozitiv focal în celulele tumorale detașate (Figurile 5.20, 5.21). Acest marker a fost studiat ca factor implicat în procesele de tranziție epitelial-mezenchimal, fenomen asociat cu invazivitatea și potențialul de metastazare al carcinoamelor în general [29, 30, 31]. Yan M și colaboratorii săi, studiind rolul microARN-urilor în cancerul ovarian, au observat că în stadiile tumorale timpurii expresia crescută a lui miR-146b determină o creștere a expresiei de vimentin, precum și a ZO-1, iar în stadiile avansate de boală, expresia microARN-ului scade, expresia lui FBXL10 crește, iar acesta inhibă expresia de vimentin [32]. Scăderea în timp a expresiei de vimentin a fost corelată cu creșterea rezistenței la cisplatin [33].

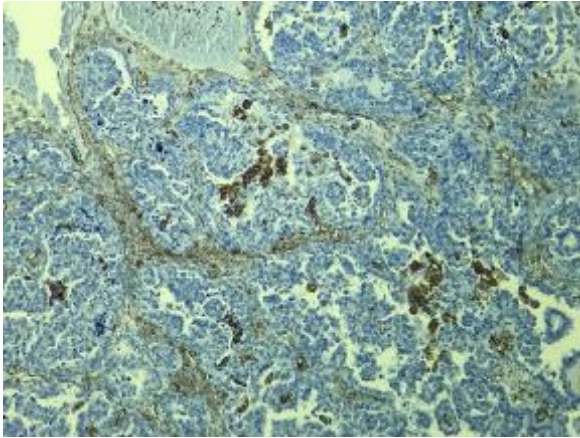


Figura 5.20. Vimentina pozitiv focal în tumor , pozitiv difuz în fibroblastele stromale, IHC x 10

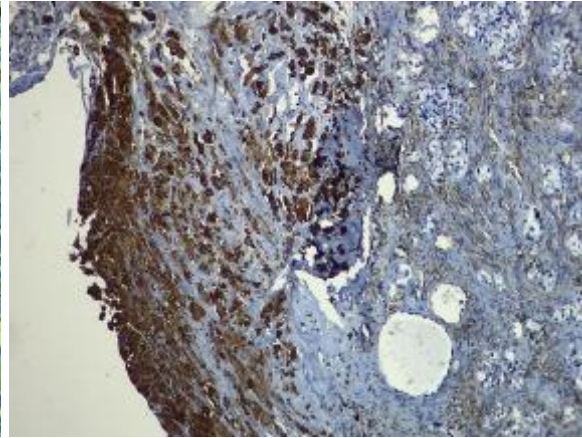


Figura 5.21. Vimentina pozitiv difuz în celulele luteale, negativ în celule tumorale de carcinom ovarian seros HG, IHC x 10

Expresia markerilor limfocitari CD20 (limfocite B), CD3, CD8 (limfocite T) a fost focal pozitiv , iar markerul CD4 (limfocite T helper) a fost negativ (Figurile 5.22 5.24). Prezența limfocitelor B și a limfocitelor T CD8+ a fost asociată cu o supraviețuire mai îndelungată și mai mult decât atât, prezența limfocitelor B intratumorale la nivelul metastazelor omentale prezintă răspuns antitumoral la pacienții tratați cu chimioterapie [34].

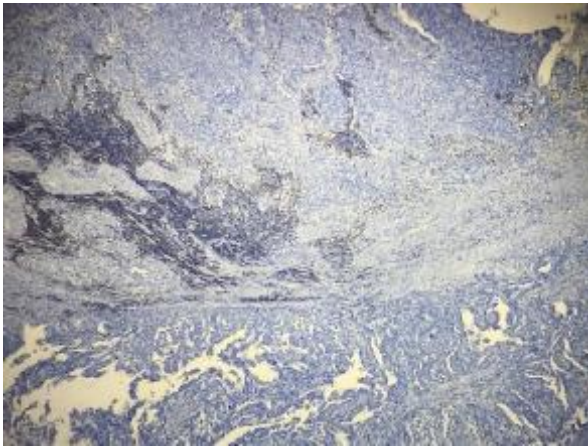


Figura 5.22. CD20 pozitiv în limfocite perivasculare, focal pozitiv peritumoral, pacient cu carcinom ovarian seros HG, IHC x 10

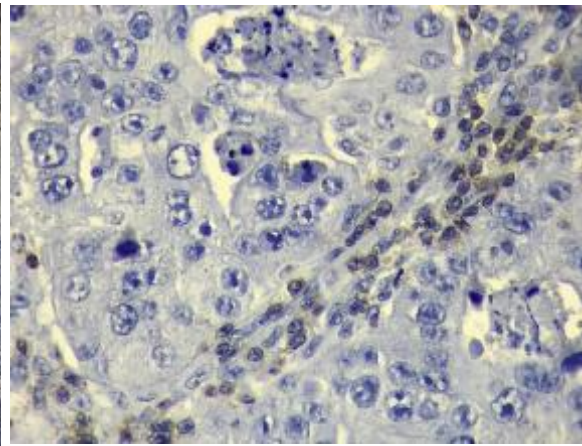


Figura 5.23. CD3 pozitiv focal, la nivelul limfocitelor peritumorale, pacient cu carcinom ovarian seros HG, IHC x 40

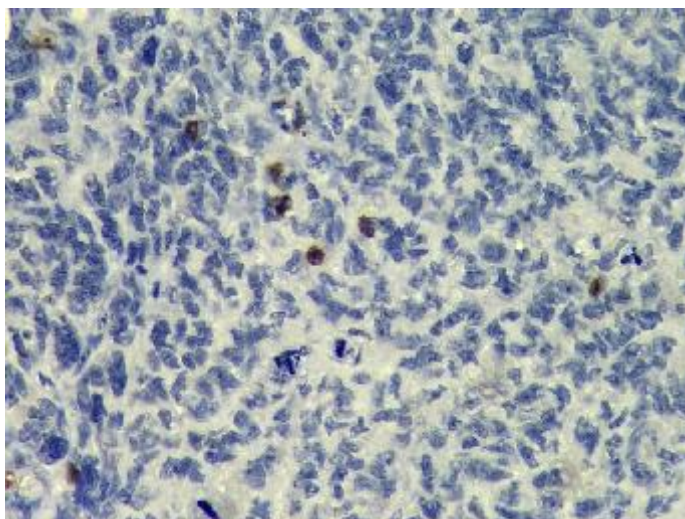


Figura 5.24. CD8 pozitiv focal, în limfocite intratumorale, pacient cu carcinom ovarian seros HG, IHC x 40

Unele studii asociaz prezența în număr crescut a limfocitelor T cu supraviețuirea crescută pe termen lung, iar altele raportează creșterea densității de limfocite T CD4+ și de molecule MHC I în tumorile recurente [35, 36].

Majoritatea cazurilor de carcinoame HG (65%) prezintă în lotul nostru de studiu pozitivitate focală, și doar 35% expresie aberrantă a markerului p53, spre deosebire de datele OMS, în care 93% din cazuri au fost raportate ca expresie aberrantă [12]. Un alt studiu raportează de asemenea o valoare mai ridicată pentru prezența patternului wild type, la 44% din cazuri [37]. În lotul martor am identificat expresie aberrantă p53 în 67% din cazuri și expresie focală în 33% din cazuri.

În ceea ce privește statusul ganglionilor limfatici loco-regionali (Figura 5.25), pentru lotul de studiu, pentru cele 9 cazuri pentru care a fost posibil evaluarea acestora, am obținut: 4 cazuri cu invazie tumorală prezentă, 5 cazuri fără invazie tumorală, însă nu s-a obținut o corelație semnificativ statistic între expresia ER și statusul ganglionilor limfatici loco-regionali din cazurile de carcinom seros HG pentru care s-a putut evalua acest criteriu. În studiul publicat în 2017, Chen S și colaboratorii săi, constată de asemenea că pozitivitatea pentru receptorii de estrogen (ER) și de progesteron (PR) nu este asociată cu invazia limfoganglionară în carcinoamele ovariene [38]. De asemenea nu s-a obținut o corelație semnificativ statistic a expresiei CD44 cu statusul ganglionilor limfatici loco-regionali ($p=0.4$).

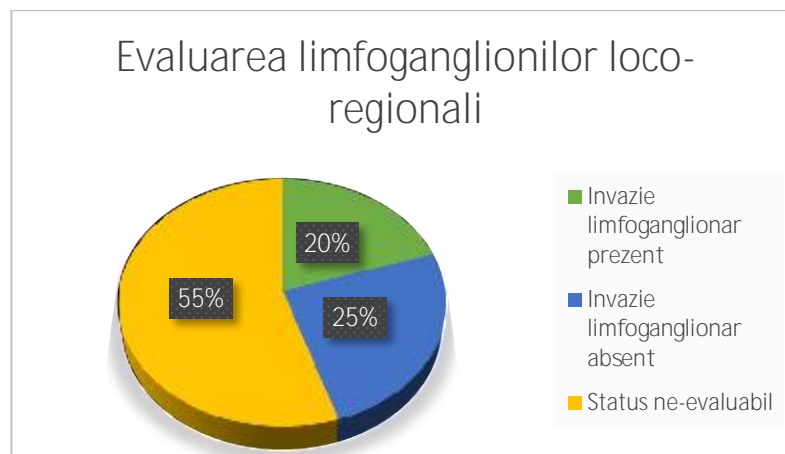


Figura 5.25. Evaluarea statusului limfoganglionilor loco-regionali în lotul de studiu

Profilul imunohistochimic al pacientelor cu invazie ganglionar prezent a fost următorul (Tabelul 5.1):

1	Vârsta 36 ani	Ki67 40%, ER negativ, AR negativ, CD44 negativ
2	Vârsta 43 ani	Ki67 80%, ER pozitiv 40%, AR pozitiv 8%, CD44 focal pozitiv
3	Vârsta 48 ani	Ki67 70%, ER negativ, AR pozitiv focal, CD44 focal pozitiv
4	Vârsta 74 ani	Ki67 80%, ER negativ, AR pozitiv 15%, CD44 difuz pozitiv

Tabelul 5.1. Profilul IHC al pacientelor cu invazie ganglionar

Profilul imunohistochimic al pacientelor fără invazie ganglionar este redat mai jos (Tabelul 5.2):

1	Vârsta 67 ani	Ki67 60%, ER pozitiv, AR negativ, CD44 negativ
2	Vârsta 65 ani	Ki67 60%, ER pozitiv, AR pozitiv focal, CD44 focal pozitiv
3	Vârsta 46 ani	Ki67 60%, ER negativ, AR negativ, CD44 focal pozitiv
4	Vârsta 79 ani	Ki67 70%, ER pozitiv 70%, AR pozitiv 6%, CD44 focal pozitiv
5	Vârsta 65 ani	Ki67 60%, ER negativ, AR negativ, CD44 focal pozitiv

Tabelul 5.2. Profilul IHC al pacientelor fără invazie ganglionar

6. CONCLUZII I CONTRIBU II PERSONALE

CONCLUZII

1. Media de vârst este cu 10 ani mai mare pentru pacientele cu carcinoame ovariene seroase de grad înalt față de alte tumori seroase ovariene, iar intervalul de vârst este larg, de la 36 la 83 ani.
2. Majoritatea pacientelor cu carcinoame ovariene high-grade au ca mediu de provenien mediul urban.
3. Cel mai întâlnit simptom clinic în lotul de studiu a fost durerea abdominal .
4. Cele mai multe tumori seroase de grad înalt sunt unilaterale în lotul studiat.
5. Cel mai frecvent stadiu tumoral la momentul diagnosticului a fost pT3c.
6. Cele mai multe carcinoame ovariene high-grade au component solid cuprins între 50-95% din suprafața tumoral .
7. Prezența componente solide în procent de peste 95% în carcinoamele de grad înalt se corelează cu bilateralitatea.
8. Cele mai multe tumori seroase high-grade se caracterizează de un raport formare papile/plaje tumorale solide cuprins între de 1:3 și 1:5.
9. Majoritatea carcinoamelor seroase de grad înalt au un index mitotic cuprins între 30-59 mitoze/10HPF.
10. Corpii psammomatoși sunt prezenți în mai puține cazuri față de datele descrise în literatură (9.68%).
11. Majoritatea implantelor peritoneale de carcinom seros high-grade msoară la momentul diagnosticului mai mult 2cm în diametrul maxim.
12. Majoritatea cazurilor de carcinom ovarian seros high-grade au prezentat extensie salpingiană (51.6%).
13. Extensia extraovariană se corelează cu bilateralitatea tumorilor de grad înalt.
14. Invazia ganglionilor limfatici loco-regionali nu se asociază cu prezența bilateralității tumorale în carcinoamele ovariene seroase high-grade.
15. Carcinoamele ovariene seroase cu grad înalt de malignitate se corelează semnificativ statistic cu expresia aberantă a lui CD44.
16. Expresia aberantă a markerului CD44 se asociază cu extensia extra-ovariană și cu extensia intraperitoneală deasemenea, pentru cazurile de carcinoame seroase de grad înalt din lotul studiat.

17. Expresia aberant a markerului CD44 se asociaz cu expresia scazut sub 10% simultan a receptorilor pentru androgen (AR) i estrogen (ER) în tumorile high-grade.
18. Expresia aberant a lui CD44 se asociaz cu indexul de proliferare Ki67 80% în carcinoamele seroase high-grade.
19. Expresia difuz pozitiv a lui CD44 se asociaz cu Ki67 80% în tumorile ovariene.
20. Expresia sczut a receptorilor de androgen sub 10% nu se asociaz cu Ki67 80% în carcinoamele de grad înalt.
21. Carcinoamele ovariene seroase cu grad înalt de malignitate CD44 difuz pozitive se asociaz cu cre terea num rului de celule CD44 pozitive în salpinge.
22. Pentru carcinoamele seroase de grad înalt CD44 negative se remarc prezen a unor celule peritumorale, non-tumorale, non-fibroblastice i f r expresie de markeri uzuali limfocitari, CD44 pozitive, care înconjoar plajele tumorale maligne ca un man on spre deosebire de grupul control unde sunt rar pozitive sau negative.
23. Am observat expresia CD44 difuz în celule corpului galben i în celule luteale restante din corpul albicans, ceea ce ar putea sugera implicarea celulelor luteale în dezvoltarea carcinoamelor ovariene seroase high-grade.
24. Pozitivitatea focal , sub 10% a receptorilor de androgen se coreleaz cu prezen a tumorilor high-grade.
25. Prezen a limfocitelor la nivel intratumoral este focal , redus i reprezentat îndeosebi de limfocite T CD3+,CD8+. Limfocitele B CD20+ se reg sesc mai ales perivascular i în agregate limfoide localizate la distan de frontul de invazie tumoral i nu în imediata vecintate sau intratumoral.
26. Vimentina este pozitiv focal, doar în celule tumorale deta ate din focarele de necroz tumoral i negativ în esutul tumoral viabil; deasemea este pozitiv în celulele corpului galben.
27. Am g sit un num r mai mic de cazuri asociate cu expresie aberant sugerând muta ia genei p53 decât cele descrise de unele studii pentru carcinoamele ovariene seroase high-grade.
28. Expresia receptorilor pentru estrogen (ER) i expresia aberant a lui CD44 nu se coreleaz cu prezen a invaziei tumorale la nivelul ganglionilor limfatici loco-regionali în carcinoamele ovariene seroase HG unde statusul limfoganglionar a fost disponibil pentru evaluare.

CONTRIBUȚII PROPRII

Am realizat un studiu complex al caracteristicilor clinice, morfologice și imunohistochimice folosind un panel crescut de markeri pentru analiza carcinoamelor ovariene seroase cu grad înalt de malignitate și am detaliat aceste însușiri și corelațiile existente între ele.

Am utilizat detectarea expresiei imunohistochimice pentru CD44, un marker molecular ale cărui implicații în procesul oncogenetic tumoral în general sau în procesul inflamator este discutat, el fiind descris până în prezent ca marker de adeziune celulară sau marker de celule stem/stem-like, cu posibil rol în invazivitatea sau proliferarea tumorală. Am utilizat acest marker atât în lotul de studiu cu carcinoame ovariene seroase high-grade cât și în lotul martor, alcătuit din carcinoame ovariene seroase low-grade, tumor seroas borderline, tumor mucinos borderline, chistadenoame seroase; am evaluat deasemenea, unde a fost posibil și expresia CD44 în corpul galben din ovar cu carcinom seros high-grade, cât și în corpul galben din ovar cu chistadenom seros și din ovar normal cu chistadenom seros în ovarul contralateral. Am constatat pozitivitatea difuză în celule luteale în toate cazurile, iar pentru carcinoamele high-grade, celule tumorale au manifestat expresie variabilă: difuză pozitivă, focal pozitivă, negativă în asociere cu pozitivitate în bandă pentru celule peritumorale, care sunt celule non-epiteliale, non-fibroblastice și non-limfocitare demonstrate prin absența pozitivității markerilor caracteristici; am observat deasemenea creșterea numărului de celule CD44 pozitive în epiteliul salpingian al pacientelor cu carcinoame ovariene seroase de grad înalt, cu menirea că acestea sunt celule non-ciliate. Aceste date sugerează posibilitatea ca structuri proprii ovariene cum sunt celule luteale de corp galben să joace un rol în dezvoltarea tumorală, cu rol anti-tumoral ori promotor tumoral, iar celulele salpingiene par a fi receptive la semnale inițiate de aceste celule luteale. Identificarea CD44 în corpul galben împreună cu patternurile specifice exprimate la nivel tumoral și expresia lui pe un tip special de celule în aceste tumori maligne reprezintă elemente de noutate ale studiului și conferă noi perspective în continuarea cercetărilor pe această temă: Care este rolul acestor celule CD44 pozitive? Au ele un rol protector, de limitare a procesului tumoral sau modificările genomice scăpate de sub control le conferă caracteristici pro-tumorale? Pot căpta aceste celule valoare prognostică sau pot deveni inter terapeutice?

Aceste celule peritumorale, CD44 pozitive, non-epiteliale, non-fibroblastice, non-limfocitare, pot reprezenta factori-cheie în oncogeneză, ele putând reprezenta variante

modificate ale oric rora dintre categoriile enumerate, cu rol încă neelucidat și care aparent prezintă o conexiune, cel puțin structural, cu celulele luteale de corp galben proprii ovarului.

Evaluând prezența lui CD44 în celule tumorale din lotul de studiu cât și din lotul de control, am clasificat expresia sa în două categorii: „CD44 - expresie aberantă” – în care am inclus cazurile difuz pozitive și cazurile negative și care a fost observată numai la tumorile high-grade, iar a doua categorie a fost reprezentată de „CD44 - pozitivitate focală”, comună pentru ambele loturi. Am observat corelații semnificative statistice pentru categoria „CD44 – expresie aberantă”, rezultatele fiind discutate și sumarizate la partea de concluzii. Pentru cazurile CD44 difuz pozitive am putut stabili o corelație cu prezența pozitivității la markerul de proliferare celulară Ki67 de peste 80%.

Am încercat evaluarea răspunsului imunologic local al pacientelor cu tumori ovariene și am constatat prezența focală a limfocitelor la nivel intratumoral, reprezentată în deosebi de limfocite T CD3+,CD8+. Limfocitele B CD20+ se regăsesc mai ales perivascular și în agregate limfoide localizate la distanță de frontul de invazie tumorală și nu în imediata vecinătate sau intratumoral.

Putem spune, aadar, că scopul acestui studiu a fost atins și obiectivele îndeplinite, iar perspectivele noi furnizate de datele noastre trebuie cercetate în continuare. Nu uităm însă menționăm că din punct de vedere economic, deși costurile necesare continuării studiilor, însemnând implicit accesarea testelor de genetică, pot fi apreciate ca ridicate sau foarte ridicate, ele sunt necesare pentru progresul științific și medical, pentru prevenție sau pentru salvarea pacientelor cu carcinoame seroase ovariene cu grad înalt de malignitate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIV

1. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th Edition, IARC, Lyon, 2014. ISBN 978-92-832-2435-8.
2. Popa M, Cîrstoiu MM, Munteanu O, Sajin M. High-grade ovarian serous carcinoma in a young woman - case report and literature review. *Ginecologia.ro*, 2017; 4(18): 47-50.
3. Malpica A, Deavers MT, Lu K et al. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am J Surg Pathol*. 2004 Apr;28(4):496-504.
4. Popa M, Cîrstoiu MM, Munteanu O, Sajin M. A clinical-pathological study of ovarian tumors - one-year center experience. *Ginecologia.ro*, 2017; 4(18): 43-46.
5. Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett B. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Sixth Edition, Springer Science+Business Media, LLC 2011. e-ISBN: 978-1-4419-0489-8.
6. Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med*. 2017 Feb; 14(1): 9–32. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084.
7. Ohsuga T, Yamaguchi K, Kido A et al. Distinct preoperative clinical features predict four histopathological subtypes of high-grade serous carcinoma of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *BMC Cancer*. 2017 Aug 29;17(1):580. doi: 10.1186/s12885-017-3573-1.
8. Vang R, Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. *Adv Anat Pathol*. 2009 Sep;16(5):267-82. doi: 10.1097/PAP.0b013e3181b4fffa.
9. Singh N, Gilks CB, Wilkinson N et al. Assessment of a new system for primary site assignment in high-grade serous carcinoma of the fallopian tube, ovary, and peritoneum. *Histopathology*. 2015 Sep;67(3):331-7. doi: 10.1111/his.12651.
10. Dao F, Schluppe BA, Tseng J et al. Characteristics of 10-year survivors of high-grade serous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2016 May; 141(2): 260–263. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.03.010.

11. Gockley A, Melamed A, Bregar AJ et al. Outcomes of Women With High-Grade and Low-Grade Advanced-Stage Serous Epithelial Ovarian Cancer. *Obstet Gynecol.* 2017 Mar; 129(3): 439–447. doi: 10.1097/AOG.0000000000001867.
12. Stewart B, Wild C. *World cancer Report 2014.* IARC, Lyon, 2014. ISBN 978-92-832-0443-5.
13. Lee Y, Miron A, Drapkin R et al. A candidate precursor to serous carcinoma that originates in the distal fallopian tube. *Journal of Pathology*, vol. 211, no. 1, pp. 26–35, 2007.
14. Moss EL, Evans T, Pearmain P et al. Should All Cases of High-Grade Serous Ovarian, Tubal, and Primary Peritoneal Carcinomas Be Reclassified as Tubo-Ovarian Serous Carcinoma? *Int J Gynecol Cancer.* 2015 Sep;25(7):1201-7. doi: 10.1097/IGC.0000000000000477.
15. Rosen DG, Zhang Z, Shan W et al. Morphological and molecular basis of ovarian serous carcinoma. *J Biomed Res.* 2010 Jul; 24(4): 257–263. doi: 10.1016/S1674-8301(10)60036-X.
16. Popa M, Birceanu Corobea A, Munteanu O, Cirstoiu MM, Sajin M. High-grade versus low-grade serous carcinoma of the ovary – current differential diagnosis and perspectives. *Arch Balk Med Union* 2018; 53(4):557-562. DOI 10.31688/ABMU.2018.53.4.11.
17. Basakran NS. CD44 as a potential diagnostic tumor marker. *Saudi Med J.* 2015; 36(3): 273–279. doi: 10.15537/smj.2015.3.9622.
18. Paik DY, Janzen DM, Schafenacker AM et al. Stem-like epithelial cells are concentrated in the distal end of the fallopian tube: a site for injury and serous cancer initiation. *Stem Cells*, 2012 Nov; 30(11): 2487–2497. doi: 10.1002/stem.1207.
19. Sacks JD, Barbolina MV. Expression and Function of CD44 in Epithelial Ovarian Carcinoma. *Biomolecules.* 2015 Dec; 5(4): 3051–3066. doi: 10.3390/biom5043051.
20. Nodin B, Zendehtrokh N, Brändstedt J et al. Research Increased androgen receptor expression in serous carcinoma of the ovary is associated with an improved survival. *Journal of Ovarian Research* 2010, 3:14.
21. Elattara A, Warburton KG, Mukhopadhyaya A et al. Androgen receptor expression is a biological marker for androgen sensitivity in high grade serous epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology.* 2012; 124(1):142-147.

22. Shen Z, Luo H, Li S et al. Correlation between estrogen receptor expression and prognosis in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017; 8(37):62400–62413.
23. Jönsson JM, Arildsen NS, Malande S at al. Sex Steroid Hormone Receptor Expression Affects Ovarian Cancer Survival. *Translational Oncology*. 2015; 8(5):424-433.
24. Popa M, Matei R, Mitrache L, Ciornenchi O, Dumitru A, Ciufu C, Vladareanu AM, Badiu A, Iliesiu A, Sajin M. Endometrioid carcinoma with squamous differentiation of the uterus and ovaries - synchronous primary tumours or metastasis: A case report. *Virchows Arch* (2015) 467 (Suppl 1):S136.
25. Lin J, Ding D. The prognostic role of the cancer stem cell marker CD44 in ovarian cancer: a meta-analysis. *Cancer Cell Int*. 2017 Jan 5;17:8. doi: 10.1186/s12935-016-0376-4.
26. Popa M, Birceanu Corobea A, Cirstoiu M, Munteanu O, Nica AE, Costache M, Sajin M. Clinico-morphological aspects and new immunohistochemistry characteristics of ovarian high-grade serous carcinoma. *Arch Balk Med Union* 2018; 53(3):330-335. DOI 10.31688/ABMU.2018.53.3.03.
27. Chen M, Yao 1, Cao Q et al. The prognostic value of Ki67 in ovarian high-grade serous carcinoma: an 11-year cohort study of Chinese patients. *Oncotarget*. 2016 Dec 23;8(64):107877-107885. doi: 10.18632/oncotarget.14112.
28. Mahadevappa A, Krishna SM, Vimala MG. Diagnostic and Prognostic Significance of Ki-67 Immunohistochemical Expression in Surface Epithelial Ovarian Carcinoma. *J Clin Diagn Res*. 2017 Feb;11(2):EC08-EC12. doi: 10.7860/JCDR/2017/24350.9381.
29. Yi BR, Kim TH, Kim YS et al. Alteration of epithelial-mesenchymal transition markers in human normal ovaries and neoplastic ovarian cancers. *Int J Oncol*. 2015 Jan;46(1):272-80. doi: 10.3892/ijo.2014.2695.
30. Li X, Yang J, Wang X et al. Role of TWIST2, E-cadherin and Vimentin in epithelial ovarian carcinogenesis and prognosis and their interaction in cancer progression. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2016;37(1):100-8.
31. Song IH, Kim KR, Lim S et al. Expression and prognostic significance of epithelial-mesenchymal transition-related markers and phenotype in serous ovarian cancer. *Pathol Res Pract*. 2018 Oct;214(10):1564-1571. doi: 10.1016/j.prp.2018.07.016.

32. Yan M, Yang X, Shen R et al. miR-146b promotes cell proliferation and increases chemosensitivity, but attenuates cell migration and invasion via FBXL10 in ovarian cancer. *Cell Death and Disease* (2018) 9:1123. DOI 10.1038/s41419-018-1093-9.
33. Huo Y, Zheng Z, Chen Y et al. Downregulation of vimentin expression increased drug resistance in ovarian cancer cells. *Oncotarget*. 2016 Jul 19;7(29):45876-45888. doi: 10.18632/oncotarget.9970.
34. Montfort A, Pearce O, Maniati E et al. A Strong B-cell Response Is Part of the Immune Landscape in Human High-Grade Serous Ovarian Metastases. *Clin Cancer Res*. 2017 Jan 1;23(1):250-262. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0081.
35. Darb-Esfahani S, Kolaschinski I, Trillsch F et al. Morphology and tumor-infiltrating lymphocytes in high-stage, high-grade serous ovarian carcinoma correlated with long-term survival. *Histopathology*. 2018 Jul 14. doi: 10.1111/his.13711.
36. Stanske M, Wienert S, Castillo-Tong DC et al. Dynamics of the Intratumoral Immune Response during Progression of High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Neoplasia*. 2018 Mar; 20(3): 280–288. doi: 10.1016/j.neo.2018.01.007.
37. Popa M, Comanescu M, Poteca A et al. A clinicopathological study of ovarian high-grade serous carcinomas. *Virchows Arch* (2016) 469 (Suppl 1): S278.
38. Chen S, Dai X, Gao Y et al. The positivity of estrogen receptor and progesterone receptor may not be associated with metastasis and recurrence in epithelial ovarian cancer. *Scientific Reports*, 2017; (7):16922. DOI:10.1038/s41598-017-17265-6.

LISTA CU LUCR RILE TIIN IFICE PUBLICATE

Articole publicate în reviste de specialitate

1. **Popa M**, Birceanu Corobea A, Munteanu O, Cirstoiu MM, Sajin M. High-grade versus low-grade serous carcinoma of the ovary – current differential diagnosis and perspectives. Arch Balk Med Union 2018; 53(4):557-562. DOI 10.31688/ABMU.2018.53.4.11.
2. **Popa M**, Birceanu Corobea A, Cirstoiu M, Munteanu O, Nica AE, Costache M, Sajin M. Clinico-morphological aspects and new immunohistochemistry characteristics of ovarian high-grade serous carcinoma. Arch Balk Med Union 2018; 53(3):330-335. DOI 10.31688/ABMU.2018.53.3.03.
3. **Popa M**, Cîrstoiu MM, Munteanu O, Sajin M. High-grade ovarian serous carcinoma in a young woman - case report and literature review. Ginecologia.ro; 5(18): 47-50 (2017). <http://www.revistaginecologia.ro/index.php/arhiv/228>.
4. **Popa M**, Cîrstoiu MM, Munteanu O, Sajin M. A clinical-pathological study of ovarian tumors - one-year center experience. Ginecologia.ro; 5(18): 43-46 (2017). <http://www.revistaginecologia.ro/index.php/arhiv/227>.

Lucr ri prezentate la manifest ri tiin ifice interna ionale

1. **Popa M**, Poteca A, Andrei F. Bilateral high-grade serous carcinoma of the fallopian tube: Case report. Virchows Arch (2016) 469 (Suppl 1): S278.
2. **Popa M**, Comanescu M, Poteca A, Mehotin C, Andrei F. A clinicopathological study of ovarian high-grade serous carcinomas. Virchows Arch (2016) 469 (Suppl 1): S278.
3. **Popa M**, Matei R, Mittrache L, Ciornenchi O, Dumitru A, Ciufu C, Vladareanu AM, Badiu A, Iliesiu A, Sajin M. Endometrioid carcinoma with squamous differentiation of the uterus and ovaries - synchronous primary tumours or metastasis: A case report. Virchows Arch (2015) 467 (Suppl 1):S136.
4. Mehotin NC, Calu A. **Popa M**, Voinea OC, Toma L, Vasilescu F. Ovarian –type epithelial tumours: A rare case of papillary serous tumour of low malignant potential of the testis. Virchows Arch (2016) 469 (Suppl 1): S336-S337.

Contracte de cercetare

Lucrarea a fost parțial finanțată prin Contractul de studii doctorale pe proiectul POSDRU/187/1.5/S/155605 “Excelență științifică, cunoaștere și inovare prin programe doctorale în domenii prioritare” nr. 22665/27/04.08.2015.