

subtipuri de leucemii acute în lotul specific de profil metilic ADN, iar completarea lotului cu un număr mai mare de subiecți investigați ar oferi posibilitatea validării statistice a lor.

Bibliografie

1. Wong I., *Methylation profiling of human cancers in blood: molecular monitoring and prognostication (Review)*. International Journal of Oncology, 2001; 19: 1319-1324.
2. Ewen M., Sluss H., Sherr C., Matsushime H., Kato J., Livingston D., *Functional interactions of the retinoblastoma protein with mammalian D-type cyclins*. 1993; Cell 73: 487-497.
3. Hangaishi A., *Inactivation of multiple tumor-suppressor genes involved in negative regulation of the cell cycle, MTS1/p16INK4A/CDKN2, MTS2/p15INK4B, p53, and Rb genes in primary lymphoid malignancies*. Blood, 1996; 87: 4949-4958.
4. Gronbaek K., Nedergaard T., Andersen M. et al., *Concurrent disruption of cell cycle associated genes in mantle cell lymphoma: a genotypic and phenotypic study of cyclin D1, p16, p15, p53 and pRb*. Leukemia, 1998; 12: 1266-1271.
5. Wong I., Ng M., Huang, D., Lee J., *Aberrant p15 promoter methylation in adult and childhood acute leukemias of nearly all the morphologic subtypes: potential prognostic implications*. Blood, 2000; 95: 1942-1949.
6. Costello J., Fruhwald M., Smiraglia D., Rush L., Robertson G. et al., *Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumour-type-specific patterns*. Nat. Genet., 2000; 24: 132-138.
7. Popescu V., Corcimar I., Butovscaia C., Zuieva A., Buruiană S., Simionică E., *Prevalențele unor profiluri metilice ale promotorului genei p15 la persoane sănătoase și printre pacienții cu leucemii acute*. Anale Științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. 2009; 3, p. 236-243.
8. Herman J., *Methylation-specific PCR: A novel PCR assay for methylation status of CpG islands*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996; 93: 9821-9826.
9. Protocol QIAGEN (02/2003) – DNA Blood Mini Kit (50).
10. Protocol QIAGEN (04/2006) – EpiTect Bisulfite Kit (48).
11. Sepulveda A., Jones D., Ogino S. et al., *CpG Methylation Analysis-Current Status of Clinical Assays and Potential Applications in Molecular Diagnostics*. Journal of Molecular Diagnostics. 2009; 11(4):266-278.
12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (Codul de identificare a secvențelor NC_000009.11).

Rezumat

În cadrul studiului dat au fost obținute date preliminare privind ponderea grupurilor de pacienți cu diferite subtipuri de leucemii acute în lotul specific de profil metilic ADN.

Am conchis că moleculele nemetilate de ADN, la nivelul promotorului genei *p15*, prezintă potențial de marker molecular-epigenetic al leucemiei acute monoblastice la

om. Pentru prelucrarea statistică a datelor a fost utilizat testul „U-Fisher”, iar valoarea $p \leq 0,1$ a fost interpretată ca tendință statistică a diferențelor dintre grupurile comparate.

Summary

In this study we have obtained preliminary results on the frequencies of various subtypes of acute leukemia with their specific DNA methylation profile.

We concluded that unmethylated DNA molecules within *p15* gene promoter have potential as molecular-epigenetic marker for acute monoblastic leukemia in human. Statistics were performed with „U-Fisher” test and $p \leq 0,1$ was considered as tendency for differences between compared groups.

Резюме

В данной статье мы представляем предварительные результаты частот разных форм острой лейкемии и профили метилирования ДНК при них.

Мы вывели, что неметилированные молекулы ДНК в промоторе гена *p15* представляют потенциал в качестве молекулярно-эпигенетического маркера при монобластной лейкемии у человека. Для статистической обработки данных мы использовали „U-Fisher” тест и $p \leq 0,1$ был принят как показатель тенденции различий между сравниваемыми группами.

Această lucrare a fost realizată cu susținerea financiară a Consiliului Suprem pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică al Academiei de Științe a Moldovei, proiecte înregistrate cu nr. 87.IND din 09.01.2007; 220.IND din 19.01.2009 în Registrul de Stat.

EXPRESIA FACTORULUI DE CREȘTERE A ENDOTELIULUI VASCULAR (VEGF) ȘI A RECEPTORULUI LUI (VEGFR2) ÎN PROCESUL PROGRESIEI NEOPLAZIEI DE CERVIX UTERIN

Lilian Șaptefrați, dr. hab. în medicină, conf. univ., **Vitalie Mazuru**, asist. univ.;
Lucian Rudico, asist. univ.;
Valeriu David, dr. în medicină, conf. univ.,
Tatiana Globa, asist. univ.
USMF „Nicolae Testemițanu”

Introducere

În anul 1863, Virchow R. [12] observă intraoperator și semnaleză în lucrarea sa „Die Krankhaften Geschwulste” vascularizarea abundentă și hiperemia vaselor peri- și intratumorale. Faptul a fost explicat drept o simplă dilatare vasculară în jurul tumorii, care se datora metaboliților eliberați de celulele necroti-

ce neoplazice. Ulterior a fost relatată prima corelație dintre vasodilatație și creșterea densității vasculare în tumori [6] și s-a demonstrat că vasele peritumorale provin din vasele vecine, și nu din tumoră [1].

În 1971, Folkman J. emite ipoteza angiogenezei tumorale, conform căreia creșterea exponențială și metastazarea tumorală sunt strâns legate de asigurarea suportului vascular tumoral [7]. Printr-o serie de experimente elegante (majoritatea confirmate pe material uman), autorul a demonstrat caracterul angiogen-dependent al proliferării și diseminării tumorilor maligne [4].

În anul 1989, Ferrara N. și Henzel W.J. [3] comunică despre purificarea acestui mitogen specific pentru celulele endoteliale, care a fost numit VEGF (factor de creștere vascular endotelial). Ulterior au fost identificate cinci gene care codifică VEGF: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D și VEGF-E. A fost demonstrat experimental că din această familie cel puțin doi factori – VEGF-C și VEGF-D – au abilitatea de a induce limfangiogeneza. Efectul VEGF se produce prin legarea de receptori specifici: VEGFR-1, VEGFR-2 și VEGFR-3. VEGFR-1 leagă VEGF-A și VEGF-B; VEGFR-2 leagă VEGF-A, VEGF-C și VEGF-D; iar VEGFR-3 leagă doar VEGF-C și VEGF-D. Există puternice dovezi experimentale [10] că cei doi liganzi ai VEGFR-3, VEGF-C și VEGF-D au acțiune limfangiogenică, VEGF-A și VEGF-B – respectiv, acțiune angiogenică, unde receptorul VEGFR2 este critic pentru angiogeneza vaselor sangvine și permeabilitatea vasculară.

Astfel, scopul lucrării a fost VEGF și VEGFR-2 în cervixul uterin, în funcție de sporirea severității neoplaziei acestuia.

Materiale și metode

Specimenele și procesarea primară. În studiul prezent au fost prelevate și incluse biopsiile țintite din leziuni evidente macroscopic și piesele de conizație. Biopsiile au fost prelucrate după tehnica histologică uzuală, fixate în formalină și incluzionate în parafină.

Din fiecare bloc au fost efectuate secțiuni în serii cu grosimea de 3 μ m. Secțiunile inițiale au fost colorate cu metoda hematoxilină-eozină pentru diagnosticul patologic și stabilirea gradului de diferențiere al tumorii. Leziunile au fost clasificate după cum urmează: CIN1 (cervical intraepithelial neoplasia 1) (n=17), CIN2 (n=11), CIN3 (n=7), carcinom microinvaziv (n=10) și carcinom invaziv (n=49). Cazurile-control (n=5) au fost reprezentate de speci-menele normale, rezultate în urma procedurii de conizație.

Imunohistochimie. Pentru evidențierea factorului endotelial de proliferare vasculară (VEGF), am recurs la colorația secțiunilor cu anticorpus primar monoclo-

nal concentrat anti-VEGF, clona VG1, „DakoCytomation” (Danemarca), din care am realizat diluții 1:25 în diluent „Dako Autostainer/Autostainer Plus”. Antigenul a fost demascat prin încălzirea la microunde timp de 20 min., folosind un tampon citrat pH9. Sistemul de lucru compatibil a fost cel de tip LSAB.

Pentru evidențierea receptorului R2 pentru VEGF (VEGF-R2), am recurs la colorația secțiunilor cu anticorpus primar policlonal concentrat anti-VEGF-R2, „Santa Cruz Biotechnology”, Inc. (SUA), din care am realizat diluții 1:200 în diluent corespunzător. Demascarea antigenului a fost efectuată prin încălzirea la microunde timp de 20 min., folosind un tampon citrat pH6. Sistemul de lucru compatibil a fost cel de tip ABC.

Metode de cuantificare. Metoda hot-spot este cea mai utilizată metodă manuală de cuantificare a structurilor histologice. La microscopul optic ariile de cuantificare se aleg la o mărire $\times 200$, ceea ce corespunde suprafeței de 0,74 mm². Metoda constă în alegerea a trei zone cu densitatea cea mai mare a structurilor histologice (de exemplu, mastocite, vase sangvine, vase limfatice etc.), numărarea structurilor din interiorul acestora fiind urmată de calcularea mediei aritmetice.

Interpretarea și scorul VEGF. Interpretarea reacției pozitive la VEGF s-a realizat pe baza intensității reacției și a procentului de celule pozitive (Raica M. și col., 2008) [8]. Criteriile scorului pentru VEGF sunt arătate în *tabelul 1*.

Tabelul 1

Scorul VEGF			
<i>Scorul</i>	<i>Imunomarcajul</i>	<i>Celule tumorale pozitive (%)</i>	<i>Intensitatea</i>
0	-	<1%	-
1	+	1-25%	Slabă
2	++	26-50%	Moderată
3	+++	>50%	Pronunțată

Analiza statistică a fost realizată cu ajutorul programului statistic “SPSS13.0”, utilizând criteriile Chi pătrat și Student, unde $p < 0.05$ era considerat semnificativ.

Rezultate

Specificitatea imunocolorării anti-VEGF. Produsul final al reacției imunohistochimice a fost exprimat la nivelul citoplasmei cu patern granular și distribuție omogenă. Epiteliul normal al cervixului uterin nu a exprimat VEGF.

Expresia VEGF în leziunile precursoare. În majoritatea absolută a cazurilor cu CIN1 celulele epitelului

stratificat scuamos nu au exprimat VEGF, excepție fiind 5 cazuri. În CIN2 am constatat reacția pozitivă în epiteliul cervixului la VEGF în 7 din 11 cazuri, patternul expresiei fiind difuz sau eterogen. În toate cazurile de CIN3 studiate a fost stabilită expresia VEGF de către epiteliul displazic al cervixului uterin, mai frecvent de o manieră eterogenă, în majoritatea cazurilor a fost stabilită supraexpresia de VEGF în acest epiteliu.

Expresia VEGF în carcinoamele microinvazive și invazive. În carcinoamele microinvazive reacția pozitivă la VEGF în celulele tumorale, cu distribuție difuză și aspect granular, a fost prezentă în toate cazurile studiate, iar în carcinoamele invazive reacția pozitivă în aceste celule a fost observată în 85,7% cazuri studiate. Intensitatea reacției varia în limite destul de largi de la un caz la altul, precum și în diferite arii ale aceleiași leziuni. În 4 cazuri din 10 de carcinom microinvaziv și în 34 cazuri din 49 de carcinom invaziv (69,4%) VEGF a fost exprimat și de celule stromale. Am observat, de asemenea, că în 4 din 7 cazuri de carcinom scuamocelular invaziv cu celule tumorale negative la VEGF, celulele stromale exprimau, totuși, acest mitogen. În aria de invazie a tumorii, intensitatea reacției pentru VEGF în celulele tumorale era mai mare, decât în celulele din ariile tumorale centrale.

În studiul efectuat, interpretarea reacției pozitive s-a realizat pe baza intensității reacției și a procentajului de celule pozitive. Expresia VEGF în carcinoamele cervicale a urmărit modul de distribuție intratumorală și la periferia acesteia, precum și în zonele de displazie cervicală asociate leziunilor tumorale. Datele obținute, conform scorului de apreciere a VEGF, sunt oglindite în *tabelul 2*.

Specificitatea imunocolorării anti-VEGFR2. Produsul final al reacției imunohistochimice a fost exprimat la nivelul citoplasmei cu pattern granular și distribuție omogenă. În cazurile-control epiteliul normal al cervixului uterin, precum și endoteliul vaselor sangvine din stroma subepitelială nu au exprimat VEGFR2.

Expresia VEGFR2 în leziunile precursoare. În cazurile cu CIN1, celulele epiteliului stratificat scuamos, precum și celulele endoteliale ale vaselor sangvine din stroma conjunctivă nu au exprimat VEGFR2. În CIN 2 am constatat o reacție pozitivă în epiteliul cervixului la VEGFR2 în 5 din 11 cazuri. În toate cazurile de CIN3 studiate a fost stabilită expresia VEGFR2 de către epiteliul displazic al cervixului uterin, mai frecvent de o manieră eterogenă. Scorul expresiei reacției varia în limite largi de la 1 la 3. În toate cazurile a fost stabilită expresia și/sau supraexpresia de VEGFR2 în celulele endoteliale din vasele sangvine situate în stroma subepitelială la interfața cu epiteliul displazic.

Expresia VEGFR2 în carcinoamele microinvazive și franc invazive. În carcinoamele microinvazive reacția pozitivă la VEGFR2 în celulele tumorale, cu distribuție difuză și aspect granular, a fost prezentă în toate cazurile studiate, iar în carcinoamele invazive reacția pozitivă în aceste celule a fost constatată în 45 din 49 cazuri studiate (91,8%). Intensitatea reacției varia în limite largi de la un caz la altul, de la scorul 1 până la scorul 3. Endoteliul vaselor sangvine din toate cazurile de carcinoame scuamocelulare microinvazive și invazive a fost pozitiv și intens pozitiv la VEGFR2. Marea majoritate a vaselor sangvine cu endoteliu activat (VEGFR2 pozitive) a fost reprezentată de vasele peritumorale. În doar 5 cazuri de carcinoame scuamocelulare invazive am identificat vase intratumorale VEGFR2 pozitive. În aria de invazie, scorul reacției pentru VEGFR2 în celulele tumorale atingea valorile 2-3, acesta fiind mai mare decât în celulele din ariile tumorale centrale. În zona respectivă, endoteliul exprima intens VEGFR2 nu numai în vasele sangvine mici, ci și în cele cu lumen larg. Chiar și celulele stromei conjunctive din zona ariei de invazie a tumorii exprimau VEGFR2 destul de intens. Scorul VEGFR2, stabilit de noi, este arătat în *tabelul 3*.

Tabelul 2

Scorul VEGF în cazul progresiei neoplaziei de col uterin

Diagnosticul histologic	Scorul							
	0		1		2		3	
	Epiteliu	Stromă	Epiteliu	Stromă	Epiteliu	Stromă	Epiteliu	Stromă
Cazuri-control (normă), n=5	5	5	0	0	0	0	0	0
CIN1, n=17	12	17	5	0	0	0	0	0
CIN2, n=11	4	11	5	0	2	0	0	0
CIN3, n=7	0	6	0	1	2	0	5	0
Carcinom microinvaziv, n=10	0	4	0	5	4	1	6	0
Carcinom invaziv, n=49	7	12	8	16	10	12	24	9

Tabelul 3

Scorul VEGFR2 în cazul progresiei neoplaziei de col uterin

Diagnosticul histologic	Scorul							
	0		1		2		3	
	Epiteliu	Endoteliu	Epiteliu	Endoteliu	Epiteliu	Endoteliu	Epiteliu	Endoteliu
Cazuri-control (normă), n=5	5	5	0	0	0	0	0	0
CIN1, n=17	17	17	0	0	0	0	0	0
CIN2, n=11	8	3	3	4	2	2	0	2
CIN3, n=7	0	0	2	0	4	2	1	5
Carcinom micro- invaziv, n=10	0	0	0	0	4	2	6	8
Carcinom inva- ziv, n=49	4	0	10	0	27	26	18	23

Discuții

Fenotipul angiogenic al tumorilor maligne este conferit de abilitatea celulelor proliferative de a secreta factori de creștere pentru celula endotelială. Observațiile noastre confirmă datele publicate până în prezent [11], care arată că principala sursă de VEGF sunt celulele tumorale.

Conform datelor noastre, VEGF nu s-a exprimat în speciemenle normale de col uterin. Markerul a fost identificat într-un număr redus de cazuri de CIN1, dar am constatat sporirea expresiei VEGF pe măsura progresiei neoplaziei de col uterin. Datele noastre atestă câștigarea fenotipului angiogenic al neoplaziei de col uterin la stadiile de CIN2-3, adică mult mai devreme decât apariția carcinomului propriu-zis. Expresia imunohistochimică a VEGF nu a fost restricționată doar la celulele epiteliale, ci și în celulele stromale, care în cazurile cu carcinoame invazive exprimau VEGF într-o proporție de peste 60%. Spre deosebire de tumorile epiteliale cu alte localizări, în care se atestă că doar aproximativ 10% dintre celulele tumorale produc VEGF, noi am observat reacție pozitivă de diferezită intensitate în marea lor majoritate. Totodată, am observat sporirea expresiei VEGF în celulele neoplazice din ariile de invazie a tumorii. Acest fapt indică că angiogeneza este stimulată mai activ la periferia tumorii. Reiesind din datele obținute, constatăm că angiogeneza tumorală în carcinoamele de col uterin este VEGF dependentă, în 85,7% din cazuri celulele neoplazice fiind pozitive pentru acest marker.

În opinia noastră, angiogeneza tumorală activă și secreția VEGF de către celulele tumorale și stromale fac din cancerul de col uterin o țintă aproape „ideală” pentru terapia antiangiogenică. Acest aspect se referă la inhibarea atât a angiogenezei, cât și a limfangiogenezei. De altfel, primele investigații în acest sens sunt destul de încurajatoare [9]. În studiul nostru, carcinoamele scuamocelulare au fost pozitive și intens pozitive la VEGF (scor 2-3) în peste 69% cazuri, as-

pect care ar putea fi utilizat în aplicarea terapiei antiangiogenice cu avastin după realizarea unor studii mai extinse în acest domeniu. În eventualele strategii terapeutice anti-VEGF va trebui, însă, de ținut cont și de rezervele fiziologice importante de VEGF seric (sanguin). Aceste rezerve în organism sunt mobilizate la activarea (agregarea) trombocitelor [7]. Prezintă interes faptul că nivelul VEGF seric corelează cu progresia tumorală, prin urmare, se propune identificarea VEGF seric drept marker al progresiei tumorale [7]. Expresia VEGF în CSFI corelează cu progresia locală a neoplaziei, dar și cu metastazarea tumorală [2]. În baza rezultatelor obținute, putem afirma că identificarea imunohistochimică a VEGF fiind relativ simplă din punct de vedere tehnic și reproductibilă, este obligatorie pentru caracterizarea fenotipului angiogenic al cancerului de col uterin.

În studiul nostru, VEGFR2 nu s-a exprimat în cervixul uterin normal și în cazurile cu CIN1. Pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin, în leziunile preneoplazice moderate și severe (CIN2-3), VEGFR2 s-a exprimat atât în celulele neoplazice, cât și în celulele endoteliale. După cum am stabilit, în cazurile cu microcarcinoame și carcinoame, VEGFR2 s-a exprimat în celulele tumorale în 91,8% cazuri. Activarea receptorilor pentru VEGF în celulele tumorale determină modificări fenotipice ale acestora, care includ o creștere a capacității de migrare și invazie. Conform datelor obținute de noi, în 100% cazuri de microcarcinoame și carcinoame scuamocelulare franc invazive endoteliul vaselor intra- și peritumorale exprima VEGFR2 într-o manieră îndubitabilă (scor 2-3). Altfel spus, în cancerul de col uterin endoteliul vaselor din stroma tumorală este activat.

Conform datelor lui Greenberg J.I. și col. (2008), tumorile care exprimă intens VEGF în consecință creează vase imature, tortuoase [5]. Acest aspect este datorat lipsei în peretele vasului de neoformație a pericitelor. Din contra, tumorile maligne ce nu exprimă

VEGF au vase sangvine de tip matur. Este interesant faptul că terapia anti-VEGF rezultă cu maturizarea vaselor prin acoperirea lor cu pericite [13]. Mai mult, în tumorile VEGF+ se supraexprimă markerii VEGFR2 și PDGF-R β , pe când în tumorile VEGF- acestea nu se exprimă [5]. Datele menționate creează perspective promițătoare în vederea tratamentului antiangiogenic în neoplazia de col uterin, celulele tumorale ale căreia, după cum am stabilit, exprimă intens atât VEGF, cât și VEGFR2.

Concluzii

1. Factorul de creștere a endoteliului vascular (VEGF) este supraexprimat de epiteliul neoplazic în CIN3 și carcinoamele scuamocelulare microinvasive. În cazurile cu carcinoame scuamocelulare invazive expresia VEGF de către celulele tumorale variază în limite largi: de la supraexpresie până la lipsa completă a expresiei.

2. Densitatea patului de vase microcirculator corelează cu expresia VEGF, prin urmare, angiogeneza este stimulată de factorii solubili eliminați de celulele stromale și neoplazice, mai ales în ariile de invazie a tumorii.

3. Expresia VEGFR2 (receptor pentru VEGF A) de către celulele endoteliale crește pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin, atingând valori maxime în carcinoamele scuamocelulare de col uterin. În aceste leziuni VEGFR2 este exprimat (cu intensitate diferită) și de celulele tumorale.

4. Pentru caracterizarea fenotipului angiogenic al carcinomului scuamocelular franc invaziv este indicată identificarea imunohistochimică a VEGF.

Bibliografie

1. Algire G.H. et al., *Vascular reactions of normal and malignant tissues in vivo. I. Vascular reactions of mice to wounds and to normal and neoplastic transplants.* J. Natl. Cancer Inst., 1945; nr. 6: p. 73-85.
2. Cheng W.F. et al., *Vascular endothelial growth factor in cervical carcinoma.* Obstet. Gynecol., 1999; 93, 1(5 Pt 1): 761-765.
3. Ferrara N., Henzel W.J., *Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells.* Growth Factors, 1990; 4, (1): 53-59.
4. Folkman J., *Tumor angiogenesis: therapeutic implications.* N. Engl. J. Med., 1971; 285, (21): 1182-1186.
5. Greenberg J.I. et al., *A role for VEGF as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation.* Nature, 2008; 456, (7223): 809-813.
6. Ide A.G., Baker N.H., Warren S.L., *Vascularization of the Brown-Pearce rabbit epithelioma transplant as seen in the transparent ear chamber.* Am. J. Roentgenol., 1939; 42: 891-899.

7. Longatto-Filho A. et al., *Lymphatic vessel density and epithelial D2-40 immunoreactivity in pre-invasive and invasive lesions of the uterine cervix.* Gynecol. Oncol., 2007; 107: 45-51.

8. Raica M. et al., *Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in intestinal type gastric carcinoma.* Rom. J. Morphol. Embryol., 2008; 49, (1), 37-42.

9. Rein D.T. et al., *Evaluation of tissue-specific promoters in carcinomas of the cervix uteri.* J. Gene. Med., 2004; 6 (11):1281-1289.

10. Roberts W.G., Palade G.E., *Neovasculature induced by vascular endothelial growth factor is fenestrated.* Cancer Res., 1997; 57(4): 765-772.

11. Soufla G. et al., *VEGF, FGF2, TGF β 1 and TGF- β RI mRNA expression levels correlate with the malignant transformation of the uterine cervix.* Cancer Lett., 2005; 221, (1):105-108.

12. Virchow R., *Die krankhaften geschwulste.* August Hirschald, Berlin, 1863; 3: 306-325.

13. Willett C.G. et al., *Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivasculature effects in human rectal cancer.* Nat. Med., 2004; 10(2):145-147.

Rezumat

În studiul prezent a fost cercetat materialul tisular al biopsiilor țintite din cervixul uterin și speciamentele colectate prin conizație de la pacientele cu leziuni detectate macroscopic. Leziunile au fost divizate în CIN I (n=17), CIN II (n=11), CIN III (n=7), carcinom microinvasiv (n=10), carcinom invaziv (n=49) și cazuri-control (n=5). Secțiunile au fost colorate imunohistochimic pentru VEGF și VEGF-R2. Datele noastre demonstrează că expresia VEGF de către celulele epiteliului stratificat scuamos este tot mai pronunțată pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin, adică și în cazul proliferării epiteliiale noninvazive în CIN. Expresia VEGF de către celulele stromale este proprie microcarcinoamelor și mai ales carcinoamelor de col uterin. Expresia VEGFR2 de către celulele endoteliale crește pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin, atingând valori maxime în carcinoamele scuamocelulare de col uterin. În aceste leziuni VEGFR2 este exprimat (cu intensitate diferită) și de celulele tumorale.

Summary

In this study were included targeted biopsies of the uterine cervix and specimens taken from cold knife conisation in patients with macroscopically detectable lesions. Lesions were stratified as follows: CIN1 (n=17), CIN2 (n=11), CIN3 (n=7), microinvasive carcinoma (n=10) and invasive carcinoma (n=49). Normal uterine cervix, taken from conisation specimens, were used as control (n=5). We applied a immunostain method for VEGF and VEGFR2 identification. Our results show that intensity

of VEGF expression by the stratified squamous epithelium depends on the stage uterine neoplasia progression. Its expression by the stromal cells is highly specific for both microinvasive and invasive carcinoma stages. VEGFR2 expression by the endothelial cells is also dependent on the severity of cervical lesions, being the highest in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. In this stage, VEGFR2 expression (with different intensities) is expressed by cancer cells.

Резюме

В настоящей работе был изучен материал прицельных биопсий и конизаций шейки матки у пациенток с патологическими участками эпителия органа, выявленных макроскопически. Поражения были классифицированы следующим образом: CIN1 (n=17), CIN2 (n=11), CIN3 (n=7), микроинвазивная карцинома (n=10) и инвазивная карцинома (n=49). В качестве контроля (n=5) были изучены конизации шейки матки с неизменной (нормальной) гистологической картиной. Было проведено иммуногистохимическое исследование с идентификацией VEGF и VEGFR-2. Наши данные доказывают, что экспрессия VEGF в клетках многослойного плоского неороговевающего эпителия возрастает по мере нарастания степени неоплазии шейки матки. По мере прогрессии неоплазии возрастает и экспрессия VEGFR2 в клетках сосудистого эндотелия, с максимальными значениями в случаях с плоскоклеточными карциномами. В этих случаях наблюдалась экспрессия VEGFR2 (с различной интенсивностью) и в опухолевых клетках.

ANALIZA MORFOMETRICĂ A POPULAȚIEI MASTOCITELOR DÎN PROSTATA UMANĂ

Tatiana Globa, asist. univ., *Vitalie Mazuru*,
asist. univ., *Lilian Şaptefraţi*, dr. hab.,
Elina Pelin, dr. în medicină., conf. univ.,
USMF „Nicolae Testemiţanu”

Introducere

Mastocitele, la fel ca și bazofilele, au fost descrise pentru prima dată cu mai bine de o sută de ani în urmă ca celule granulare care prezintă metacromazie la coloranții bazici. Prima descriere a mastocitului datează din 1863 și a fost realizată de către Friederich von Recklinghausen [12]. Acesta a observat o celulă cu refringență particulară în mezenterul necolorat de broască, în mezenterul de iepure, dar și în alte țesuturi provenind de la diferite animale.

Paul Ehrlich, studiind acțiunea coloranților tia-zidici asupra țesuturilor, semnalează metacromazia, proprietate histochemică prin care se identifică și astăzi o mare parte din populația mastocitară. Astfel Ehrlich, în 1878, descrie pentru prima dată morfologia microscopică a mastocitului, precum și principalele proprietăți tinctoriale ale acestuia [7].

Mastocitele prezintă pe suprafață receptori cum ar fi integrinele, care mediază interrelația lor cu alte celule, dar și cu matricea extracelulară. Filogenetic, mastocitele sunt prezente la toate animalele care au sistem circulator, fiind absente în țesuturile nevascularizate. Este o celulă cu durată lungă de viață și cu un marcat potențial secretor. Mastocitele au aspecte morfologice, histochemice și funcționale diferite, atât de la o specie la alta, cât și în cadrul aceleași specii, ceea ce demonstrează heterogenitatea sistemului mastocitar.

Mastocitele sunt prezente în majoritatea țesuturilor, însă numărul lor depinde de organul în care sunt studiate, de vârstă, dar și de o serie de condiții patologice. Fiind o celulă fixă a țesutului conjunctiv, a fost identificată cu ajutorul unor metode specifice în țesutul conjunctiv perivascular, periglandular, în submucoasa organelor cavitare. Au mai fost observate în interstițiul muscular de la nivelul tubului digestiv, căi respiratorii, glanda mamară, uter, vezică urinară, dar și în țesutul adipos printre adipocite. În piele, mastocitele se găsesc în număr mare în derm, în imediata vecinătate a membranei bazale, în jurul foliculilor piloși și al glandelor sudoripare. Un număr mare de mastocite a fost evidențiat și în exudatele pleurale și peritoneale, ceea ce permite izolarea lor pentru efectuarea unor studii în vitro. Un număr mic de mastocite a fost descris în splină, testicol și ganglionii spinali. Doar câteva organe din organismul uman nu conțin mastocite în condiții normale: ficat, glandele suprarenale și hipofiză [3;5].

În prostată se observă o densitate mastocitară crescută, în special, în perioada pubertară și o scădere a numărului acestora odată cu înaintarea în vârstă [11]. Există încă numeroase controverse, nu numai asupra biologiei mastocitelor în condiții normale, cât mai ales privind comportamentul lor în neoplazii. Mastocitele au fost semnalate în număr mare în stroma tumorală și chiar printre celulele tumorale, dar semnificația lor în aceste condiții este încă incertă [1]. Deși secretă un mare număr de mediatori biologici, nu toate aceste substanțe sunt prezente în toate mastocitele. În lucrarea prezentă ne-am propus investigarea particularităților microscopice, analiza morfome-