

## **Bibliografie**

1. Hirsh A. T., Criquit M. H., Treat-Jacobson D., Regensteiner J. G., Creager M. A., Olin J. W., et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA* 2001; 286, p.1317-1324.
2. Рекомендации Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Диагностика и лечение больных с заболеваниями периферических артерий». М. 2007, 112с.
3. Российский консенсус «Диагностика и лечение пациентов с критической ишемией нижних конечностей». М.: 2002; 40.с.
4. Trans Atlantic Inter-Society Consensus (TASC) on Management of Peripheral Arterial Disease (PAD). *J. Vasc. Surg.* 2000; 31, p. 1–296.
5. Rosenbaum-Dekel Y., Fuchs A., Yakirevich E., et al. Nuclear localization of long-VEGF is associated with hypoxia and tumor angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 332(1), p. 271-178.
6. Manganini M., Maier J.A.M. Transforming Growth Factor  $\beta$ 2 inhibition of Hepatocyte Growth Factor-induced endothelial proliferation and migration. *Oncogene.* 2000; 19, p.124-133.
7. Hasegawa Y., Takanashi S., Kanehira Y., et al. Transforming growth factor-beta1 level correlates with angiogenesis, tumor progression, and prognosis in patients with non small cell lung carcinoma. *Cancer.* 2001; 91(5), p. 964-971.
8. Mazurek A., Kuc P., Terlikowski S., Laudanski T. Evaluation of tumor angiogenesis and thymidine phosphorylase tissue expression in patients with endometrial cancer. *Neoplasma.* 2006;53(3), p.242-246.
9. Yip G. W., Smollich M., Gotte M. Therapeutic value of glycosaminoglycans in cancer. *Mol Cancer Ther.* 2006; 5(9), p. 2139-2148.
10. Nisato R.E., Tille J.C., Jonczyk A., Goodman S. L., Pepper M.S. Alpha beta 3 and alpha beta 5 integrin antagonists inhibit angiogenesis in vitro. *Angiogenesis.* 2003; 6(2), p.105-119.
11. McDonnell K., Wellstein A. Cancer metastasis. In: Chang AE, ed. *Oncology - An Evidence-Based Approach.* New York, Springer, 2006, p. 244-272.
12. Miron L., Gafton B., Marinca M. Angiogeneza tumorală – implicații în terapia cancerului. *Jurnalul de Chirurgie, Iași,* 2010, Vol. 6, nr. 2, p.
13. Muschler G. F., Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow:the influence of aspiration volume. *JBJS Am.,* 1997, vol. 79, p. 223-232.
14. Papathanasopoulos A., Giannoudis P. V. Biological considerations of mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells. *Injury,* Sept. 2008,vol.39, suppl 2, p. 21-32.
15. Muschler G. F., Nakamoto C., Griffith L. G. Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. *J Bone Joint surg Am.,* 2004; 86, p.1541-1558.

## **DENSITATEA VASCULARĂ ȘI DISTRIBUȚIA VASELOR SANGUINE ÎN NEOPLAZIA CERVIXULUI UTERIN (DUBLA IMUNOCOLORARE ANTI- CD31/ANTI-ACTINA MUȘCHIULUI NETED-ALPHA)**

**Lilian Șaptefrați, Vitalie Mazuru, Valeriu David, Tatiana Globa, Lucian Rudico**  
Catedra Histologie, Citologie și Embriologie

### **Summary**

#### ***Divergent expression of endoglin and marker of proliferation Ki67 in the benign and malign lesions of the uterine cervix***

In this study we show, for the first time, application of double immunohistochemical stain method using endothelial marker of high specificity (CD105) and marker of proliferation (Ki67),

applied on the formalin fixed and paraffin embedded neoplazic specimens of the uterine cervix. This method represents high accuracy in functional status interpretation of the blood vessels. Based on obtained results, we want to propose a hypothesis according which the activation and proliferation of endothelial cells are distinctive processes in the precursor and malignant lesions of the uterine cervix. Activation of endothelial cells is an early stage that predominates in the cervical intracellular lesions of the uterine cervix, while the endothelial proliferation is observed in blood vessels of the invasive carcinomas.

### **Rezumat**

În acest studiu prezentăm pentru aplicarea metodei de dublă imunocolorare bazată pe un marker endotelial de mare specificitate (CD31) și un marker al peretelui vascular, pentru identificarea celulelor musculare perivasculare sau a pericitelor ( $\alpha$ -SMA), pe specimene neoplazice de col uterin incluse în parafină. Această metodă este de o acuratețe superioară în interpretarea statutului funcțional al vaselor sanguine tumorale. În baza rezultatelor obținute, putem concluziona că densitatea vaselor CD31 pozitive înregistrează o creștere liniară pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin. Odată cu progresia neoplaziei crește ponderea vaselor sanguine imature și intermediare.

### **Introducere**

În tumori, vasele sanguine se găsesc în stadii diferite de diferențiere și maturare la un moment dat, astfel că putem identifica trei tipuri de vase intratumorale, conform lui Gee M.S. și colab. (2003) [5]: 1) vase imature constituite din muguri de celule endoteliale, care se formează din peretele vaselor funcționale și care nu sunt perfuzate, având o rată mare de proliferare. Mugurii respectivi, fără lumen vizibil, pot fi reprezentați de celule endoteliale izolate pozitive pentru CD31; 2) vase intermediare, care sunt mici și perfuzate, dar nu au în constituția peretelui său pericite ori celule musculare netede; 3) vase mature, care au un lumen larg și perete subțire, în care celulele endoteliale sunt în stare dormantă cu potențial proliferativ minim – peretele acestora conține pericite și rareori formează muguri endoteliali.

Vasele tumorale au arhitectură modificată, haotică: sunt neregulate, dilatate, tortuoase, se termină adesea în “deget de mână”. Diametrul acestora este variabil, atât în cadrul aceluiași vas, cât și de la un vas la altul. Vasele tumorale nu se diferențiază definitiv în arteriole, capilare sau venule, ci prezintă caractere mixte, comune tuturor celor trei tipuri. Endoteliul lor este subțire, fenestrat, iar membrana bazală are o grosime variabilă [1]. Peretele vascular are aspect de mozaic, fiind constituit din celule endoteliale mature, număr redus de celule endoteliale progenitoare încorporate și celule endoteliale slab interconectate. Incluziunile celulelor tumorale în structurile vasculare tumorale este controversată. Nu este încă bine stabilit dacă acestea fac parte din peretele vascular sau sunt doar în migrare spre lumenul vascular. Pericitele sunt absente sau reduse numeric, fără de joncțiuni stabile cu celulele endoteliale [1]. Consecința acestei eterogenități structurale a vaselor tumorale este hiperpermeabilitatea și predispoziția la hemoragii. Fluxul sanguin prin aceste vase este încetinit, oscilant, cu tendință la stază. Modificările morfofuncționale ale vaselor tumorale, comparativ cu cele normale au ca substrat o serie de particularități moleculare exprimate în toate structurile peretelui vascular.

Astfel, scopul acestei lucrări a fost studiul rețelei vasculare sanguine, a densității vasculare și tipurilor de vase raportată la severitatea neoplaziilor colului uterin.

### **Material și metode**

Specimenele și procesarea primară. În studiul prezent au fost prelevate și incluse biopsiile țintite din leziuni evidente macroscopic, materialul postoperator și piesele de conizație. Materialul colectat a fost prelucrat după tehnica histologică uzuală, fixat în formalină și incluzionat în parafină.

Histopatologie. Din fiecare bloc au fost efectuate secțiuni în serii cu grosimea de 3  $\mu$ m grosime. 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 (*neoplazie cervicală intraepitealială I*) (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 speciunile normale rezultate în urma procedurii de biopsie.

Imunohistochimie. Pe secțiuni adiționale a fost aplicată metoda de dublă imunocolorare, pentru colocalizarea CD31 și a actinei mușchi neted- $\alpha$  ( $\alpha$ -SMA). În dubla imunocolorare am folosit 2 anticorpi monoclonali: anti-CD31, clona JC70A pentru evidențierea endoteliului vaselor normale și tumorale și anticorpi anti-actină mușchi neted- $\alpha$  clona 1A4 pentru identificarea celulelor musculare perivasculare sau a pericitelor. Sistemul de lucru Envision Doublestain (DakoCytomation) a inclus anticorpi secundari anti-șoarece, -iepure și -oaie, metoda HRP (peroxidază) pentru CD31 și AP (fosfatază alcalină) pentru actină. Produsul final de reacție pentru CD31 s-a colorat în brun cu DAB (celulele endoteliale), iar celulele musculare netede au avut afinitate pentru Fast Red, colorându-se în roșu.

Particularitatea metodei a constat în utilizarea CD31 la o diluție de 1:50 urmată de reducerea timpului de incubare de la 12 ore la 4<sup>0</sup>C, la 30 de minute la temperatura camerei, fără a folosi un sistem de amplificare sau sistemele de tip Envision+ sau LSAB+. Contracolorarea nucleară s-a realizat cu hematoxină Lille modificată. Montarea s-a realizat în mediu apos, fără a se realiza deshidratarea și clarefierea uzuală în etanol absolut urmat de benzen din cauza solubilității cromogenului Fast Red în alcool.

Interpretarea CD31 și actină de mușchi neted. Cuantificarea tipurilor de vase a vizat vasele peritumorale și intratumorale, precum și reacția vasculară din zonele de inflamație și invazie din stroma adiacentă tumorii. Pentru studiul angiogenezei au fost utilizate două tipuri de metode – calitativă și cantitativă.

#### *Metoda calitativă.*

Această metodă presupune interpretarea corectă a secțiunilor colorate imunohistochimic. Au fost luate în considerare în vederea numărării elementele delimitate de endoteliul pozitiv pentru markerul CD31. Au fost numărate inclusiv grupurile celulare mici care nu formează lumen.

#### *Metoda cantitativă.*

Pentru estimarea cantitativă a vaselor sanguine a fost utilizată metoda propusă de Korkolopoulou P. și col (2001) [6]. Conform acestei metode, pentru cuantificarea vaselor sanguine este necesar de a respecta următoarele principii:

- se utilizează secțiuni colorate pentru CD31;
- prin examinare cu obiectiv  $\times 10$  și  $\times 40$  se identifică ariile cu densitate maximă de capilare și vase mici;
- se alege câmpul microscopic  $\times 20$  cu densitatea cea mai mare;
- imaginea este captată cu cameră digitală și stocată ca fișier JPEG (1550 $\times$ 1070pxl, 16,7 milioane culori, 24-bit);
- atunci când nu este evidentă o arie de maximă vascularizare, se aleg 2-4 câmpuri și se stochează microdensitatea vasculară;
- se ia în considerare doar câmpul cu vascularizație maximă;
- se exclud din interpretare ariile cu infiltrat abundent, necroze și ulcerații, dar sunt utile pentru controlul intern al colorării celulelor endoteliale;
- celulele endoteliale izolate sau situate în grupuri mici se consideră vase individuale;
- nu se numără vasele cu perete muscular;
- variabilele care se includ în analiza statistică sunt valorile medii ale parametrilor;
- întreaga procedură trebuie să se desfășoare fără cunoașterea datelor clinico-patologice.

Clasificarea vaselor pozitive la anticorpii CD31 și/sau actina de tip mușchi neted a respectat criteriile descrise de Gee M.S. și colab (2003) [5]. Acești autori au propus segregarea vaselor tumorale în trei categorii, pe baza dimensiunii, perfuzării, proliferării celulelor endoteliale și prezenței pericitelor:

- vase imature constituite din muguri de celule endoteliale, care se formează din peretele vaselor funcționale, nu sunt perfuzate și au rata mare de proliferare; mugurii pot fi reprezentați de celule endoteliale izolate, fără lumen vizibil, pozitive pentru CD31;

- vase intermediare, care sunt mici, perfuzate și nu au în constituția peretelui pericite sau celule musculare netede;

- vase mature, care au un lumen larg și perete subțire, în care celulele endoteliale sunt în stare dormantă cu potențial proliferativ minim, care în perete conțin pericite și care rareori formează muguri endoteliali.

Analiza statistică. A fost efectuată cu programul SPSS13-0, și a inclus testul Chi pătrat și testul Student, valorile  $p < 0.05$ , fiind considerate semnificative.

## Rezultate

Specificitatea dublei imunocolorări anti-CD31/anti-actină de mușchi neted. Determinarea CD31 a fost aleasă pentru imunocolorarea celulelor endoteliale, deoarece acest anticorp este foarte sensibil și este mai specific decât CD34. Controlul pozitiv intern pentru CD31a fost reprezentat de reacția pozitivă de la nivelul endoteliului arterelor din tunica fibromusculară a colului, iar pentru actina de mușchi neted ( $\alpha$ -SMA) – de reacția pozitivă a miocitelor din tunica musculară și din peretele acestor artere. Produsul final de reacție pentru CD31, celulele endoteliale, s-a colorat în brun cu DAB, iar celulele musculare netede, cât și pericitele fiind pozitive pentru  $\alpha$ -SMA, au avut afinitate la Fast Red, colorându-se în roșu sau roz. În speciamele de țesut normal produsul final al reacției pentru CD31 era exprimat la nivelul tuturor domeniilor celulare ale celulelor endoteliale. Pe de altă parte, CD31 nu a fost exprimat doar de celulele endoteliale ale vaselor sanguine ci și de celulele din stratul superficial ale epiteliului stratificat scuamos al exocolului, cât și de unele celule solitare ale stromei. Actina de mușchi neted, prezentă în celulele musculare netede și pericite, s-a colorat în roșu sau roz.

Tipul și distribuția vaselor sanguine în cervixul uterin normal. În lamina proprie superficială a cervixului normal predominau vasele patului microcirculator: arteriole, capilare și venule. Majoritatea absolută a acestor vase erau de tip matur, mult mai rar de tip intermediar. Rețeaua de vase capilare era bine dezvoltată, în special în vecinătatea epiteliului exocolului, unde intrau în componența papilelor conjunctive subepiteliale. În stroma profundă, vasele sanguine aveau un lumen mai mare, numeric fiind mai puține. Densitatea vaselor sanguine din stroma cervixului uterin a fost  $14,1 \pm 2,1$  (Tab. 1).

Tabelul 1

### Densitatea vaselor CD31+ din stroma conjunctivă în cadrul progresiei neoplaziei de col uterin

	Cazuri control (normă)	CIN1	CIN2	CIN3	Carcinom micro-invaziv	Carcinom invaziv
Vase CD31+	$14,1 \pm 2,1$ n=5	$15,4 \pm 1,2$ n=17	$19,8 \pm 1,5$ n=11	$31,1 \pm 3,5$ n=7	$36,8 \pm 3,4$ n=10	$49,2 \pm 4,7$ n=49

Tipul și distribuția vaselor sanguine în leziunile precursorare. În CIN1, distribuția și numărul vaselor sanguine nu se deosebea semnificativ de rezultatele obținute în cervixul normal. În CIN2, densitatea vaselor sanguine era puțin mai mare –  $19,8 \pm 1,5$ , uneori erau depistate vase sanguine de tip intermediar. O creștere semnificativă a numărului de vase sanguine a fost constatată în cazurile cu CIN3. În materialul de la acești pacienți am observat prezența multiplelor vase sanguine cu o densitate de  $31,1 \pm 3,5$ , localizate la interfața stromei cu epitelul neoplazic. Prezintă interes faptul, că în aceste cazuri a sporit semnificativ ponderea de vase sanguine de tip imatur și intermediar.

Vasele sanguine în carcinoamele microinvazive și franc invazive. Vasele sanguine în carcinoamele microinvazive și în carcinoamele franc invazive aveau un aspect diferit comparativ cu vasele patului microcirculator din cervixul normal. Aceste vase aveau lumen diferit, traiect

sinuos, perete subțire, frecvent în peretele lor absentau pericitele. Reacția pozitivă s-a înregistrat atât în vasele peritumorale, cât și în cele tumorale. Remarcăm, însă, că majoritatea vaselor sanguine erau concentrate în ariile peritumorale. Peritumoral am observat două tipuri de vase pozitive la CD31: vase mari cu lumen larg și traiect sinuos, cu morfologie asemănătoare vaselor limfatice și vase cu lumen mediu sau mic. Atât vasele intratumorale, cât și cele peritumorale prezentau ocazional semnale imunohistochimice pentru ambii markeri utilizați.

Vasele peritumorale din imediata vecinătate a tumorii se ramificau în interiorul țesutului tumoral. Ramificațiile intratumorale inițiale au fost reprezentate de cordoane fără lumen delimitate de celule endoteliale CD31 pozitive, care nu erau înconjurate de pericite  $\alpha$ -SMA pozitive. Celulele endoteliale izolate au predominat în aria tumorală, erau lipsite de lumen și au fost negative la imunoreacția pentru actina de tip mușchi neted. Reacția a avut intensitate sporită și constantă. Am observat de asemenea o distribuție eterogenă a celulelor endoteliale izolate, zonele cu densitate mare alternând cu arii tumorale cu rare celule pozitive la CD31. Forma celulelor descrise anterior a fost variabilă, unele dintre ele prezentând prelungiri cu tendința de a se răspândi în țesutul tumoral.

În ariile de invazie a tumorii au fost decelate numeroase vase sanguine de tip imatur și intermediar. Remarcăm faptul că vasele cu fenotip CD31+/ $\alpha$ -SMA+ formau ramificații în direcția țesutului tumoral sub formă de cordoane de celule endoteliale CD31+ fără lumen. Concomitent cu acest proces, am observat formarea vaselor sanguine intratumorale cu fenotip CD31+/ $\alpha$ -SMA-. În studiul prezent, am demonstrat că invazia vasculară a fost stabilită la colorația cu hematoxilină-eozină în 27 cazuri din 59, iar pe secțiunile tratate imunohistochimic cu CD31/ $\alpha$ -SMA embolia cu celule tumorale a fost depistată doar în 17 cazuri. În cazurile examinate am depistat emboli tumorali doar în vasele sanguine peritumorale, care au fost identificate, drept vase sanguine de tip imatur și intermediar.

În carcinoamele microinvazive, densitatea vaselor sanguine ale patului microcirculator a fost  $36,9 \pm 3,4$ . Similar cu cazurile de CIN3, aceste vase erau situate preponderent la interfața stromei cu epiteliul neoplazic. Densitatea vaselor microcirculației sanguine în carcinoamele invazive a constituit  $49,2 \pm 4,7$ , cele peritumorale predominând cantitativ. Datele despre densitatea vaselor sanguine ale patului microcirculator în cadrul progresiei neoplaziei de col uterin, cât și despre tipul de vase sanguine în această patologie, sunt oglindite în tabelele 1-2.

Tabelul 2

**Densitatea vaselor patului microcirculator CD31+ din stroma conjunctivă în cadrul progresiei neoplaziei de col uterin conform clasificării tipurilor de vase**

<b>Diagnosticul histologic</b>	<b>Vase imature</b>	<b>Vase intermediare</b>	<b>Vase mature</b>
Cazuri control (normă), n=5	0,06±0,06	1,1±0,5	12,86±2,41
CIN1, n=17	0,98±0,16	2,98±0,32	11,41±1,07
CIN2, n=11	1,43±0,16	2,12±0,24	16,21±1,57
CIN3, n=7	4,49±0,7	6,27±0,68	20,37±2,55
Carcinom microinvaziv, n=10	12,14±1,38	16,35±2,1	8,34±0,86
Carcinom invaziv, n=49	9,99±1,05	22,74±2,38	16,5±1,71

Datele obținute atestă că pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin crește ponderea vaselor sanguine imature și intermediare (Tab. 2). Mai mult, această creștere are un caracter liniar până la stadiul de carcinom microinvaziv scuamocelular. În cazurile de carcinom invaziv scuamocelular al colului uterin ponderea vaselor mature devine mai mare, probabil, pe contul instalării vascularizării tumorale. Corelație între gradul tumorii și densitatea vaselor patului microcirculator, conform datelor obținute, nu a fost stabilită.

## Discuții

Fenotipul celulelor endoteliale din tumorile maligne este incomplet cunoscut, poate fi eterogen de la un tip de tumoră la alta și diferit de cel al celulelor endoteliale din vasele normale. Se presupune că terapia antiangiogenică este mai eficientă în cazul vaselor imature tumorale. De aceea, diferențierea prin dublă imunocolorare a vaselor imature versus mature în tumori ar putea constitui un pas obligatoriu în trierea pacienților cu răspuns favorabil la terapia antiangiogenică și implicit cu prognostic bun pe termen lung. Cele expuse mai sus constituie motivația studiului realizat de noi. Astfel, am efectuat metoda de dublă imunocolorare pentru celulele endoteliale din vasele tumorale și a celulelor perivascularare pozitive la actina de tip mușchi neted drept criteriu de diferențiere a tipurilor de vase, urmărind distribuția acestora în leziunile neoplazice de col uterin. În vasele microcirculației în procesul de angiogeneză sunt incluse în special două tipuri de celule – celulele endoteliale și pericitele. Mai mult, în vasele mari cooptate de către tumoare, celulele musculare ale tunicii medii se transformă în pericite [3]. Celulele endoteliale sunt „păzite” de către pericite, care facilitează menținerea endoteliului în starea non-proliferativă [4].

În rezultatul investigațiilor efectuate am observat că în speciunile de țesut normal de col uterin vasele microcirculației aveau un caracter matur, sau foarte rar intermediar. Pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin densitatea vaselor patului microcirculator, dar și imaturitatea vaselor sanguine sporea. În carcinoamele scuamocelulare franc invazive majoritatea vaselor sanguine erau situate peritumoral. Frecvent, aceste vase formau ramificații intratumorale  $\alpha$ -SMA negative. Am remarcat numeroase celule endoteliale izolate dispuse intratumoral alături de vase tumorale intermediare fără semnal pozitiv pentru markerul muscular al pericitelor. Frecvent, de la cuiburi de astfel de celule porneau ramificații CD31+. Mai mult, am descris formarea cordoanelor de celule CD31+/ $\alpha$ -SMA- în ariile intratumorale și în zonele de invazie a tumorii. Astfel, procesul denumit angiogeneză tumorală, implică vasele capilare și venulele postcapilare din imediata vecinătate a tumorii, însă vasele nou formate sunt diferite structural și funcțional de cele preexistente.

Conform datelor obținute, dubla imunocolorare CD31/ $\alpha$ -SMA permite determinarea procentului de vase mature și imature din leziunea neoplazică de col uterin cu implicații terapeutice și prognostice importante. Peritumoral predomină vasele pozitive la ambii markeri, în schimb intratumoral, aceste vase sunt foarte rare. Reacția pozitivă pentru CD31 nu diferențiază vasele de neoformație de tip sanguin de cel limfatic.

Prezența numărului mare de celule endoteliale izolate și a vaselor de tip imatur și intermediar în carcinoame ar putea reprezenta un factor de prognostic nefavorabil. Pentru agenții terapeutici cu selectivitate ridicată pentru celulele endoteliale activate, raportul între vasele cu celule perivascularare și celulele endoteliale izolate ar putea prezice răspunsul la tratamentul antiangiogenic. Există date că endoteliocitele izolate din tumoare cresc independent de prezența factorilor de proliferare endotelială, adică aceste celule obțin caractere ce le fac mai puțin sensibile la terapia antiangiogenică [2].

## Concluzii

1. Densitatea vaselor CD31 pozitive înregistrează o creștere liniară pe măsura sporirii severității neoplaziei de col uterin. Odată cu progresia neoplaziei crește ponderea vaselor sanguine imature și intermediare.
2. Nu toate vasele tumorale se găsesc în același stadiu de dezvoltare și prezintă grade diferite de maturare. Fenomenul de înmugurire este caracteristic vaselor imature CD31 pozitive/ $\alpha$ -SMA negative.

## Bibliografie

1. Baluk P. et al. Abnormalities of basement membrane on blood vessels and endothelial sprouts in tumors. In: Am J Pathol. 2003, vol. 163, nr. 5, p. 1801-1815.
2. Bicknell R. Targeting angiogenesis with monoclonal antibodies. In: Ann Oncol. 2006,

- vol. 17, Suppl 10, p. x76-78.
3. Bikfalvi A. Angiogenesis: health and disease. In: Ann Oncol. 2006, vol. 17, Suppl. 10, p. x65-70.
  4. Folkman J., Shing Y. Angiogenesis. In: J Biol Chem. 1992, vol. 267, nr. 16, p. 10931-10934.
  5. Gee M.S. et al. Selective cytokine inhibitory drugs with enhanced antiangiogenic activity control tumor growth through vascular inhibition. In: Cancer Res. 2003, vol. 63, nr. 23, p. 8073-8078.
  6. Korkolopoulou P. et al. Morphometric microvascular characteristics predict prognosis in superficial and invasive bladder cancer. In: Virchows Arch. 2001, vol. 438, nr. 6, p. 603-611.

## CARACTERISTICA SUBCLASELOR CELULELOR ENDOTELIALE IMPLICATE ÎN ANGIOGENEZĂ LIMFANGIOGENEZĂ

Vitalie Mazuru, Lilian Șaptefrați, Tatiana Globa, Valeriu David, Lucian Rudico

Catedra Histologie, Citologie și Embriologie

### Summary

#### *Characteristic of endothelial cells subpopulations involved in the angiogenesis and lymphangiogenesis*

Filopodia have been identified on endothelial cells from the tip of the sprouting for half a century, but the key role of these TIP cells in vessels branching have been identified in the past few years. Recent studies have discriminated in addition to TIP cells that are responsible for migration and leading the way, Stalk cells that trail behind the TIP, elongate the stalk, improve intercellular junctions and lumen formation, and the most recently discovered Phalanx cells that are the most quiescent and stabilize the branch, determining the tissue perfusion and oxygenation. Discovering of these endothelial cells subpopulations allows better understanding of angiogenesis, and its consequent clinical manipulating. In this paper, based on the most recent achievements in the field, the authors give a brief phenotypical and physiological description of each endothelial subpopulation convicted on vessels branching.

### Rezumat

Filopodiile au fost identificate pe suprafața celulelor endoteliale de la frontul de înaintare cu jumătate de secol în urmă, însă rolul acestor celule în ramificarea vasculară a fost stabilit doar de câțiva ani. Studiile recente au identificat pe lângă celulele TIP, care sunt responsabile de migrare, celule Stalk, responsabile de alungirea prin proliferare tulpinei endoteliale, formarea joncțiunilor intercelulare și lumenului, și celule Falangiene, care sunt cele mai calme din punct de vedere fiziologic, stabilizează ramura formată și determină perfuzarea și oxigenarea tisulară. Descoperirea acestor subpopulații de celule endoteliale permite o mai bună înțelegere a fenomenului de angieneză și o mai bună manipulare clinică a ei, ulterior. În această lucrare, autorii, în baza celor mai recente rezultate din literatură, fac o succintă descriere a fiecărei subpopulații endoteliale în parte.

În ultimele decenii, angiogeneza ca și fenomen fiziopatologic este studiată foarte intens, fiind descrisă cu lux de amănunte importanța sa în diverse stări fiziologice, dar și patologice. Încă în 1971, Folkman a expus o părere, care mai apoi a devenit dogmă – progresia tumorală este angiogendependentă. De-a lungul anilor, în baza rezultatelor obținute în studii experimentale și clinice, au fost elaborate o serie întregă de preparate chimice potente de interveni la diferite verigi ale lanțului patogenetic angiogen: factor de creștere, receptor, co-receptor. În pofida acestor eforturi susținute, rezultatele clinice nu s-au dovedit a fi cele scontate. Este bine cunoscut