

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**STUDIU CLINIC, HISTOLOGIC ȘI
IMUNOHISTOCHEMIC ÎN ENDOMETRIOZĂ**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC,
PROF. DR. LAURENȚIU MOGOANTĂ**

**DOCTORAND,
DR. OFIȚERU (ISTRATE-OFIȚERU) ANCA-MARIA**

CRAIOVA

2019

CUPRINS

PARTEA GENERALĂ

INTRODUCERE.....	3
I. ONTOGENEZA APARATULUI REPRODUCATOR FEMININ.....	4
II. HISTOFIZIOLOGIA UTERULUI.....	6
III. ENDOMETRIOZA.....	8

PARTEA SPECIALĂ

IV. OBIECTIVE.....	11
V. STUDIUL CLINICO-STATISTIC AL ENDOMETRIOZEI.....	13
VI. STUDIUL HISTOLOGIC AL ENDOMETRIOZEI.....	17
VII. STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC ÎN ENDOMETRIOZĂ.....	18
VIII. CONCLUZII FINALE.....	23
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	26

PARTEA GENERALĂ

Introducere

Endometrioza reprezintă o patologie benignă, destul de frecventă, ce afectează o mare parte din femei și poate avea multiple localizări: pelvis, peritoneu, sept recto-vaginal, ovare, perete abdominal după secțiunea cezariană, ombilic, dar poate fi prezentă, mai rar și în alte organe: rinichi, tract urinar, colon, plămâni sau chiar creier, iar eutopic se întâlnește în structura miometrului, caz în care se numește adenomioză [Shalin, S.C., Haws, A.L., și colab., 2012; Stevens, E.E., Pradhan, T.S., și colab., 2013; Efremidou, E.I., Kouklakis, G., și colab., 2012; Brătilă, E., Ionescu, O.M., și colab., 2016].

Cele mai frecvente simptome sunt reprezentate de durere pelvină, sângerare vaginală, infertilitate, dismenoree, disurie, dispareunie. Severitatea și complexitatea durerii implică probleme majore în gestionarea posibilităților terapeutice [Laux-Biehlmann, A., D'Hooghe, T., și colab., 2015; McKinnon BD, Bertschi D, și colab., 2015].

Etiopatogeneza acestei afecțiuni se poate împărți în cinci categorii: cea mai acceptată teorie fiind cea a menstruației retrograde, dar sunt amintite și metaplazia celomică, originea din celulele restante embrionare, teoria inducerii, sau cea a diseminării limfatice sau vasculare [Berceanu, C., Ofițeru, A.M., și colab., 2018].

Trebuie ținut cont de faptul că pe lângă simptomatologia care poate evolua nefavorabil, pot exista factori de risc asociați care modifică structura glandelor endometriale, ducând la transformare premalignă sau chiar malignă a focarelor de endometrioză.

Studiile au aratat că genele, sistemul imunitar, factorii de mediu și influența hormonală pot duce la transformarea în hiperplazie endometrială, displazie și chiar transformare malignă a focarelor de endometrioză ectopice [Berceanu, C., Ofițeru, A.M., și colab., 2018].

Din punct de vedere microscopic, această patologie este caracterizată prin prezența glandelor endometriale și a stromei endometriale, însoțite de diferite grade de fibroză, hemoragie veche sau recentă și macrofage ce au fagocitat hemosiderina [Comănescu, M., Potecă, A., și colab., 2018].

Componenta epitelială poate avea mai multe aspecte, poate fi unistratificată, de tip müllerian sau pot fi prezente glande cu diferite arhitecturi, dar care respectă caracteristicile endometrului normal [Comănescu, M., Potecă, A., și colab., 2018].

Stroma este reprezentată de niște celule rotund ovarale, cu nucleii sferici și citoplasmă redusă cantitativ. Peristromal se identifică celule ale sistemului inflamator, limfocite T, limfocite B-rare și numeroase macrofage ce au fagocitat hemosiderina. Acest micromediu inflamator este asociat cu disfuncții endoteliale și participă la transformarea carcinogenetică a insulelor de endometrioză [Comănescu, M., Potecă, A., și colab., 2018].

Toate aceste modificări microscopice apărute în focarele de endometrioză/ adenomioză, împreună cu simptomatologia, semnele clinice și posibilele transformări, plasează această temă într-un domeniu actual de cercetare, bazat pe studii interdisciplinare.

CUVINTE CHEIE: endometrioză, adenomioză, simptomatologie, microscopie.

CAPITOLUL I. Ontogeneza aparatului reproducător feminin

Deși sexul cromozomial sau sexul genetic al unui embrion este determinat în momentul fertilizării de tipul de spermatozoid care fecundează ovulul, caracteristicile morfologice masculine și feminine nu încep să se dezvolte decât în a VII-a săptămână de sarcină. Sistemele genitale timpurii ale celor două sexe sunt similare; prin urmare, perioada inițială a dezvoltării

genitale este menționată ca starea indiferentă a dezvoltării sexuale [Moore, K.L. Persaud, T.V.N., 2003].

Gonadele feminine, ovarele derivă din trei surse: din mezotelium (epiteliul mezodermal) ce căptușește peretele posterior abdominal, mezenchimul subiacent (țesut conjunctiv embriologic) și din celulele germinative primordiale [Moore, K.L. Persaud, T.V.N., 2003].

Ambele sexe prezintă inițial câte două perechi de ducte genitale: mezonefrice Wolff și paramezonefrice Müller. Cel de-al doilea apare ca o invaginație în plan longitudinal a epitelului de suprafață a zonei anterolaterale a crestei urogenitale.

Inițial, cele două ducte sunt separate de un sept, ulterior fuzionează și dau naștere canalului uterin. Extremitatea inferioară a acestor două ducte asociate este proiectată în sinusul urogenital, la nivelul peretelui posterior, unde formează o mică proeminență, numită tubercul paramezonefric (Müller) [Sadler, T. W., 2007].

Gena SRY, prin intermediul genei SOX9, participă la dezvoltarea gonadelor masculine, iar gena WNT induce dezvoltarea ovarului. WNT amplifică expresia DAX1 ce aparține familiei de gene ce codifică receptorii hormonal nucleari, cu rol în inhibarea acțiunii SOX9. De asemenea, WNT4 reglează expresia genelor responsabile pentru diferențierea gonadelor feminine – ovarele, printre acestea numărându-se gena TAFII105 ce aparține ARN-polimerazei celulelor foliculare ovariene [Sadler, T.W., 2007].

Principalele căi genitale iau naștere din ductele paramezonefrice la embrionii de sex feminin. Pentru început, fiecare duct este alcătuit din 3 porțiuni: 1) un segment superior vertical, comunicant cu cavitatea abdominală; 2) un segment așezat orizontal ce se încrucișează cu ductul mezonefric; 3) un segment inferior vertical ce fuzionează cu segmentul omolog opus. Primele două segmente enumerate formează trompa uterină, după ce coboară ovarul, iar segmentele inferioare fuzionate dau naștere canalului uterin [Sadler, T.W., 2007].

După ce extremitatea fuzionată a ductelor paramezonefrice atinge sinusul urogenital, din porțiunea pelviană încep să prindă contur două proeminente compacte, bulbii sino-vaginali, ce vor forma o placă vaginală compactă [Sadler, T.W., 2007].

În concluzie, aparatul urinar și cel genital iau naștere din mezoderm. Prin stadiul indiferent trec cele 3 componente ale sistemului genital: gonadele, căile genitale și organele genitale externe. Sub controlul genei WNT4 se vor dezvolta ovarele, amplificând expresia genei DAX1, cu rol în inhibarea genei SOX9 (implicată în dezvoltarea sistemelor genitale masculine). Estrogenii acționează asupra sistemului paramezonefric la sexul feminin, dirijând formarea trompelor uterine, uterului, colului uterin și porțiunii superioare a vaginului [Sadler, T.W., 2007].

CAPITOLUL II. Histofiziologia uterului

Aparatul genital feminin este alcătuit din gonadele feminine (ovarele), cu funcții gametogenetice și hormonogenetice, din căile genitale feminine: trompe uterine, uter și vagin, din organele genitale externe: labii mari, labii mici, clitoris și vestibul vaginal, dar și din structuri hormono-dependente precum: glanda mamară și placenta.

Uterul este un organ cu formă de pară, alcătuit din corp uterin, istm și col uterin, este localizat între vezica urinară și rect, cranial de vagin, orientat în mod normal în ante-verso-flexie [Crăițoiu, Ș., 2003].

Peretele uterin prezintă 3 tunici: perimetrul (tunica externă), miometrul (tunica mijlocie) și tunica internă (endometrul) [Crăițoiu, Ș., 2003].

Mucoasa uterină este alcătuită dintr-un epiteliu și un corion. În perioada fertilă a femeii (între pubertate și menopauză), endometrul este format dintr-un epiteliu și o lamina propria, care conține glande tubulare drepte. Porțiunea din apropierea miometrului a acestor glande are aspect ramificat, uneori. Epiteliul endometrial este așezat pe o membrană bazală, cu

structură continuă, ce-l delimitează de corionul citogen și prezintă un singur rând de celule cilindrice secretorii, reduse numeric, celule ciliate, cu kinocili, scurți și rarefiațiși celule bazale, proliferative, regeneratoare [Crăițoiu, Ș., 2003].

Epiteliul glandelor endometriale seamănă cu cel al endometrului superficial, dar prezintă un număr mult mai mic de celule ciliate [Junqueira L.C., Carneiro, J., 2008].

Hormonii feminini, estrogenul și progesteronul controlează activitatea aparatului reproducator feminin. Celulele epiteliale și țesutul conjunctiv asociat proliferază și se diferențiază sub comanda hormonală. La pubertate, sub comanda hormonilor hipofizari (folisculostimulant- FSH și luteotrop-LH) se află ovarul, declanșându-i secreția de estrogeni și progesteron, ce induc modificări ciclice endometriale [Junqueira L.C., Carneiro, J., 2008].

Faza menstruală durează câteva zile, în medie 3-4 și este urmată de faza proliferativă și faza secretorie (luteală). Faza proliferativă variază ca durata, având o medie de 10 zile, iar faza secretorie începe la ovulație și durează 14 zile (**Tabel 1**) [Junqueira L.C., Carneiro, J., 2008].

Arterele uterine, ramuri directe din arterele iliace comune, aduc aportul cel mai mare de sânge la nivelul uterului. O mică parte de sânge este trimis la nivelul uterului și din arterele ovariene și arterele ligamentelor rotunde. Din arterele uterine se desprind arterele arcuate, din care iau naștere arterele radiare, ce trimit colaterale către colul uterin și corpul uterin. Din arterele uterine se desprind ramuri ce pătrund în miometru și formează la nivelul stratului plexiform un adevărat plex anastomotic arterial, de la nivelul căruia pornesc ramificații destinate celor 3 tunici ale uterului.

Către endometru sunt trimise 2 tipuri de artere: scurte, drepte, nutritive și lungi, funcționale, spiralate. Arterele lungi, funcționale, hormonodependente, spiralate, numite și arteriole helicine, sunt destinate straturilor superficiale ale endometrului. În timpul fazei proliferative cresc în dimensiuni, se capilarizează masiv, formează anastomoze arteri-arteriale în

cele 2/3 superficiale endometriale și se răsucesc puternic în timpul fazei secretorii a ciclului endometrial. La finalul fazei progesteronice, peretele arterelor funcționale se contractă puternic din cauza scăderii bruste a hormonilor ovarieni și se declanșează un proces de ischemie locală, urmat de necroză endometrială.

Venele sunt invers direcționate față de artere și realizează numeroase plexuri venoase la nivelul miometrului, în sarcină evidențiându-se cel mai bine.

Vasele limfatice sunt importante în ceea ce privește patologia tumorală uterină. La nivelul fiecărei tunici a uterului există câte o rețea limfatică: mucoasă, musculară și seroasă. Aceste rețele formează trunchiuri colectoare cu traiect orientat către marginile uterine și spre ganglionii inghinali și iliaci.

Inervația uterină este în special vegetativă, parasimpatică și simpatică, primind ramificații din plexul hipogastric inferior [*Bold, A., Mogoanta, L., și colab, 2011*].

CAPITOLUL III. Endometrioza

Endometrioza este o adevărată boală enigmatică, o boală născută prin diverse teorii, studiată de aproape un secol și încă neelucidată pe deplin.

Histogeneza acestei patologii nu este cunoscută, însă caracteristica obligatorie în definirea endometriozei o reprezintă prezența țesutului endometrial în localizări din exteriorul cavității uterine sau în structura miometrului, caz în care se numește adenomioză.


Endometrioza și adenomioza din punct de vedere morfologic, sunt reprezentate de existența țesutului endometrial și a stromei periglandulare într-o regiune ectopică, însă, din punct de vedere anatomic și clinic, cele două patologii sunt diferite.

Există mai multe teorii privind patogeneza acestei patologii (**Tabelul 2**).

Fazele ciclului menstrual					
	Foliculinică (Proliferativă)	Luteală (Secretorie)			Menstruală
Hormonii hipofizari și acțiunile lor principale	FSH-ul (hormonul foliculostimulant) determină creșterea accelerată a foliculilor ovarieni	LH-ul (hormonul luteinizant) atinge un vârf ce coincide cu debutul fazei secretorii și apare ca urmare a acțiunii stimulatorii a estrogenilor. Acesta induce ovulația și evoluția corpului galben			
Evenimentele ce au loc la nivel ovarian	Foliculii ovarieni preantrali și antrali. Foliculul dominant ajunge la stadiul preovulator	Ovulația	Evoluția corpului galben	Involuția corpului galben	
Hormonii ovarieni	Foliculii ovarieni secretă estrogeni ce acționează asupra uterului, vaginului și a trompelor uterine	Progesteronul secretat de către corpul galben are acțiune asupra uterului, în principal		Se oprește producția de progesteron	
Evenimentele endometriale principale	Regenerarea mucoasei după menstruație	Îngroșarea mucoasei, spiralarea glandelor, apariția secreției glandulare			Eliminarea celor 2/3 superficiale ale endometrului, la aproximativ 14 zile după

			ovulație
--	--	--	----------

Tabel 1 - Evenimentele petrecute în timpul ciclului menstrual – sinteză.

<i>Teorii curente</i>	<i>Etiologie multifactorială</i>	<i>Factori de risc</i>
<i>Menstruația retrogradă sau regurgitarea transtubară, transplantul tisular</i>	INTERACȚIUNE <i>Gene specifice</i>  <i>Factori de mediu</i>	<i>Agregarea familială</i>
<i>Diseminarea limfatică</i>		<i>Mutația genetică și polimorfismul</i>
<i>Diseminarea hematogenă/ vasculară</i>		<i>Defecte anatomice</i>
<i>Metaplazia epiteliului celomic</i>		<i>Toxinele din mediul înconjurător</i>
<i>Teoria inducției</i>		
<i>Dependența hormonală</i>		
<i>Factori imunologici/ Rolul sistemului imun</i>		

Tabelul 2 - Teorii privind patogeneza endometriozei [după Berceanu, C., Brătilă, E., și colab. 2018].

În funcție de localizarea endometriozei, de factorii de risc asociați, s-a studiat diverite transformări maligne ale acestei patologii (**Figura 1**).

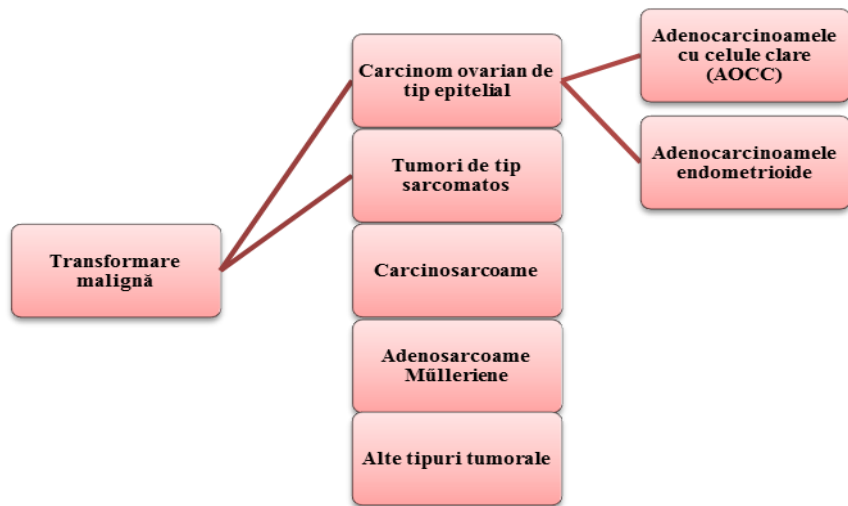


Figura 1 - Tumori maligne apărute în urma transformării endometrioizice.

PARTEA SPECIALĂ

CAPITOLUL IV. Obiective

Scopul acestui studiu este de a evalua și analiza statistic un lot de paciente cu endometrioză/ adenomioză pentru aprecierea caracteristicile clinice (simptomatologie, antecedente personale fiziologice și patologice, comportamente, analize de laborator), metodelor de diagnostic și tratamentului aplicat acestora.

De asemenea, un alt obiectiv este reprezentat de evidențierea anumitor aspecte histologice, histopatologice și imunohistochimice ale acestei patologii, în funcție de localizare (ovariană, pelvină/ peritoneală, miometrială, parietală) și evaluarea focarelor endometriale/ glandulare ectopice pentru demonstrarea implicării unor factori de risc în evoluția acestei patologii.

Prin intermediul imunohistochimiei, cu ajutorul markerilor specifici acestei patologii (citokeratina 7, receptorii pentru estrogen și receptorii pentru progesteron) se dorește evidențierea prezenței endometriozei/ adenomiozei în structura diferitelor organe și punerea diagnosticului de certitudine în ceea ce privește originea tisulară. Cu ajutorul markerului de diagnostic diferențial (citokeratina 20) se dorește diferențierea zonelor ectopice glandulare de eventualele metastaze cu punct de plecare digestiv.

Printr-o analiza statistică, numerică, cu ajutorul markerilor imunohistochimici necesari (cluster of cluster of differentiation 31/ 34, cluster of cluster of differentiation 3/ 20/ 68/ 79 α , triptazei, factorului de proliferare Ki67, proteinei tumorale 53, proteinelor antiapoptotice BCL- 2 și PTEN) să dorește sublinierea implicării vascularizației peri-endometriale accentuate, inflamației, factorilor de proliferare celulară, prezenței proteinelor anti-apoptotice celulare și a proteinelor supresor tumorale în dezvoltarea focarelor de endometrioză/ adenomioză și eventualei transformări preneoplazice/ neoplazice a acestora.

CAPITOLUL V. Studiul clinico-statistic al endometriozei

Introducere: Endometrioza este o patologie benignă ce afectează în special femeile aflate la vârsta reproductivă. Cele mai frecvente simptome întâlnite în această patologie sunt reprezentate de durere, subfebrilitate, sângerări, dar și dismenoree, disurie, dispareunie. Severitatea și complexitatea durerii pot implica probleme majore de gestionare a resurselor terapeutice [Laux-Biehlmann, A., D'Hooghe, T., și colab., 2015; McKinnon, B.D., Bertschi, D., și colab., 2015].

Tratamentul de primă intenție este cel medicamentos [Walch, K., Unfried, G., și colab., 2009], însă în lipsa răspunsului favorabil se poate apela la tratamentul chirurgical. Prima intenție în tratamentul chirurgical este reprezentată de laparoscopie. În funcție de localizarea focarelor de endometrioză și profunziunea leziunii, se alege tehnica chirurgicală, aceasta putând reprezenta tratamentul curativ al acestei patologii [Crosignani, P.G., Vercellini, P., și colab., 1996].

Material și metode: Studiul meu s-a realizat pe un număr de 120 de cazuri de endometrioză, 30 cazuri de endometrioză ovariană, 30 cazuri de endometrioză pelvină, 30 cazuri de adenomioză (endometrioză miometrială) și 30 cazuri de endometrioză a peretelui abdominal.

Pacientele au fost internate și investigate în Clinica II de Obstetrică-Ginecologie și Clinica de Chirurgie III ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova (SCJUC), în perioada 2010-2018.

S-a realizat un studiu clinico-statistic cu ajutorul programului Microsoft Excel 2010, bazat pe: anul internării, localizarea endometriozei (ovariană, pelvină, adenomioză, endometrioza peretelui abdominal), vârsta pacientelor, mediul de proveniență, înălțime, greutate, indicele de masa corporala (BMI), comportamente (consum de cafea, alcool, tutun), condiții de viață și muncă (casnice/ salariate/ studente-eleve), pe simptomatologie (sângerări, dureri), antecedente personale patologice, antecedente personale fiziologice: menarhă, menstruații regulate sau neregulate, avorturi spontane/

la cerere, număr de nașteri naturale sau prin OCST, infertilitate, intervenții chirurgicale suferite, date de laborator (formulă leucocitară, hemoglobina (Hb), hematocritul (Ht), volum eritrocitar mediu (MCV), hemoglobină eritocitară medie (MHC), concentrația medie a hemoglobinei (MCHC), număr trombocite, viteza de sedimentare a hematilor (VSH), valoarea serica a Cancer Antigen 125 (CA125) și medicația folosită pentru atenuarea simptomatologiei, prin care s-au adunat și comparat toate datele pacientelor.

În urma analizelor de laborator și a investigațiilor de specialitate s-a decis practicarea tratamentului chirurgical pentru excizia focarelor de endometrioză. Tehnicile chirurgicale au fost alese în funcție de localizarea endometriozei.

Rezultate: Vârsta de diagnosticare a endometriozei a variat în funcție de localizare astfel: endometrioza ovariană (22-46 de ani), pelvină (30-57 de ani), adenomioză (30-46 de ani), endometrioza peretelui abdominal (23-38 de ani). Endometrioza peretelui abdominal apare la vârstă mai mică din cauza creșterii nașterilor prin operație cezariană.

În funcție de anul diagnosticării endometriozei, s-a observat că cele mai multe cazuri de endometrioză ovariană au fost în anul 2018, endometrioză pelvină în anul 2017, adenomioza în anii 2012 și 2017, iar endometrioza peretelui abdominal în anii 2017 și 2018.

Folosind înălțimea și greutatea fiecărei paciente cu endometrioză, am calculat indicele de masa corporala și am observat că cele mai multe paciente normoponderale au fost cele cu endometrioza peretelui abdominal (21 cazuri) și cu endometrioză pelvină (21 cazuri), urmate de cele cu adenomioză (20 de cazuri) și cele mai puține paciente normoponderale au fost cele cu endometrioză ovariană (16 cazuri). Subponderale au fost 9 paciente cu endometrioză ovariană, 8 paciente cu endometrioză a peretelui abdominal și 4 paciente cu endometrioză pelvină. Supraponderale au fost 6 paciente cu adenomioză, 2 paciente cu endometrioză pelvină și 2 paciente cu endometrioză ovariană. Obezitate de grad I au prezentat 4 paciente cu

adenomioză și câte 2 paciente cu endometrioză ovariană și pelvină. Obezitate de gradul al-II-lea au prezentat câte o pacientă cu endometrioza peretelui abdominal, ovariană și pelvină.

Cele mai frecvente simptome relatate la motivele internării au fost: sângerarea vaginală și durerile pelviabdominale.

Tot în funcție de localizare am comparat antecedentele personale fiziologice (prezența menstruațiilor regulate/ neregulate, avorturile spontane/ la cerere, numărul de nașteri eutocice/ prin operație cezariană) și antecedentele personale patologice (infertilitatea, intervențiile chirurgicale suferite pentru îndepărtarea focarelor de endometrioză: chistectomie, ovariectomie parțială, histerectomie, excizia nodulilor endometrioziци de la nivelul cicatricii post- operație cezariană), (**Figura 2**).

Studiind hemoleucograma, viteza de sedimentare a hematiilor, CA-125, am observat, de asemenea că au existat modificări la mai multe cazuri.

Comportamentele pacientelor au variat, fiind factori asociați dezvoltării endometriozei.

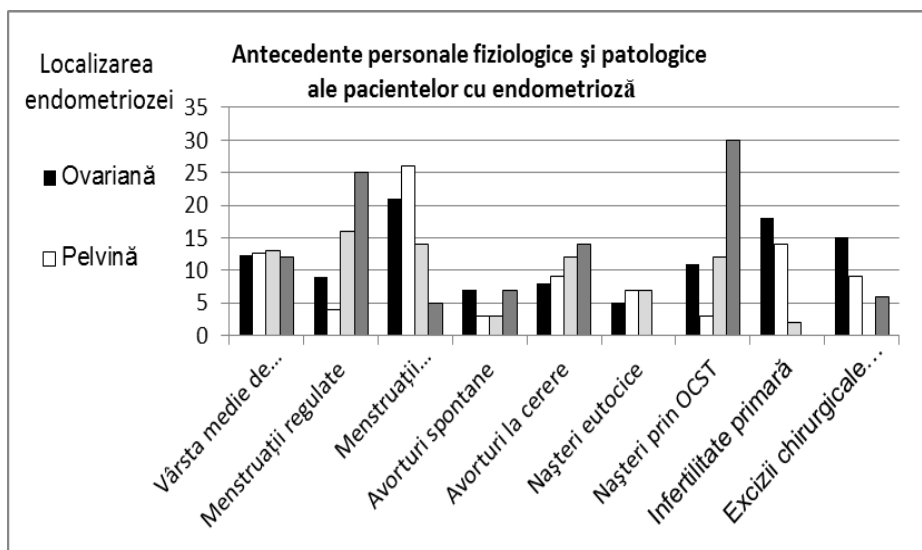


Figura 2 – Antecedente personale fiziologice și patologice ale pacientelor cu endometrioză

Concluzii: Simptomatologia vastă asociată endometriozei poate afecta starea fizică, dar și cea psihică a pacientei. Dismenoreea, durerea cronică pelvină și infertilitatea se asociază cel mai frecvent cu această patologie benignă, care are însă caractere de malignitate: diseminează local și la distanță, deteriorează țesuturilor adiacente și determină invazie celulară.

Tratamentul endometriozei poate fi de tip medicamentos, iar a doua opțiune terapeutică este reprezentată de tratamentul chirurgical, tehnica fiind aleasă în funcție de localizarea endometriozei și de statusul pacientei.

În prezența factorilor de risc: mecanici, chimici, genetici sau inflamatori, focarele de endometrioză se pot transforma premalign sau chiar malign.

Vârsta pacientelor afectate a variat în funcție de localizare, cele mai tinere au fost cele care au prezentat endometrioză ovariană sau a peretelui abdominal, apărută post-operație cezariană, iar cele mai în vârstă fiind cele cu endometrioză pelvină.

S-a studiat faptul că la femeile supraponderale este influențată major secreția hormonală și dereglată menstruația, modificându-se fluxul acesteia și implicit se modifică și riscul de apariție al endometriozei. La unele femei apare o relație direct proporțională între cele două, iar la alte femei o relație invers proporțională.

CA-125 și VSH la 1 oră pot fi crescute la pacinetele cu endometrioză reprezentând un marker de screening pentru această patologie.

S-a constatat legatura invers proporțională între fumat și endometrioză prin interacțiunea dintre fumul de țigară și polimorfismul genei glutathion-S-transferază ca eventual factor de risc pentru dezvoltarea endometriozei. S-a observat că pacientele consumatoare de alcool sau de cafea pot fi mai frecvent afectate de această patologie, în comparație cu femeile care nu consumă aceste băuturi.

CAPITOLUL VI. Studiul histologic al endometriozei

Introducere: Diagnosticul de certitudine al endometriozei este susținut de examenul histopatologic. Prin utilizarea tehnicilor de histologice clasice, prin colorația Hematoxilină-Eozină (HE) și colorația Tricromică Masson (TM), am evidențiat prezența țesutului endometrial eutopic/ ectopic.

Din punct de vedere microscopic, endometrioza este o patologie caracterizată prin prezența glandelor endometriale și a stromei endometriale, însoțite de diferite grade de fibroză, hemoragie veche sau recentă și macrofage ce au fagocitat hemosiderina [Comănescu, M., Potecă, A, 2018].

Endometrioza cu atipii prezintă celule cu pleiomorfism ce variază de la moderat până la sever, dispuse în mai multe straturi, putând forma chiar micropapile. Aceasta poate avea un potențial premalign, din cauza atipiilor celulare și modificărilor arhitecturale [Comănescu, M., Potecă, A, 2018].

Endometrioza transformată malign poate fi evidențiată prin identificarea focarelor endometrioze cu transformare malignă. Diagnosticul de malignitate asociat patologiei endometrioze necesită prezența la nivelul aceleiași structuri tisulare a leziunii benigne, confirmarea originii primare și a continuității histologice a leziunilor benigne-maligne.

Material și metode: În urma intervențiilor chirurgicale aplicate drept tratament în cazul endometriozei ovariene, pelvine (peritoneale), adenomiozei sau endometriozei peretelui abdominal, s-a prelevat țesutul de interes, s-a introdus în soluție de formol de concentrație 10% pentru fixare și apoi s-au inclus la parafină. Blocurile astfel obținute au fost secționare cu ajutorul microtomului HM350 și lamele rezultate au fost colorate prin tehnicile clasice Hematoxilină-Eozină și Tricromic Masson, toate acestea fiind efectuate în cadrul departamentului de Histologie al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova.

Concluzii: Diagnosticul de endometrioza este dictat de examenul histopatologic. Prin colorațiile clasice HE și TM se identifică structurile glandulare și stroma adiacentă cu localizare ectopică, la nivel intern:

adenomioza sau la nivel extern: în structura organelor pelvine sau abdominale. Acest diagnostic histopatologic trebuie uneori confirmat prin IHC.

Identificarea endometriozei se bazează pe atingerea următoarelor criterii: prezența glandelor endometriale, a stromei și eventual a revarsatului hemoragic perilezional, ce conține macrofage ce au fagocitat hemosiderină.

Componenta epitelială este reprezentată de un epiteliu ce variază ca structură și formă de la columnar simplu, până la pseudistratificat columnar sau pluristratificat în transformări premaligne hiperplazice.

Componenta stromală este reprezentată de celule tinere: fibroblaste, limfocite și macrofage, implicate în declanșarea proceselor inflamatorii perilezionale și în declanșarea eventualei transformări maligne a focarelor de endometrioză.

Diagnosticul de endometrioză transformată malign necesită studiu imunohistochimic și îndeplinirea criteriilor histopatologice obligatorii: coexistența ambelor leziuni în structura aceluiași organ, cu continuitate tisulară, dar și infirmarea existenței unei alte leziuni neoplazice, pentru eliminarea posibilității confundării cu o determinare secundară.

CAPITOLUL VII. Studiul imunohistochimic în endometrioză

Introducere: Endometrioza se identifică atât prin colorațiile histologice, însă și mai bine se face diagnosticul diferențial prin tehnicile de imunohistochimie. De aceea, cele 120 de cazuri studiate în această teză au fost analizate și din punct de vedere imunohistochimic.

Cu ajutorul anticorpilor anti-Citokeratină 7/ 20 (CK7, CK20), anti-receptori Estrogen (ER) / receptori Progesteron (PR) am demonstrat că zonele tisulare studiate au avut origine endometrială.

Factorii de mediu, hormonal, inflamatori influențează foarte mult aceste zone, astfel încât prezența ER/PR poate fi modificată, gradul de proliferare celulară poate fi crescut (marcaj cu anticorpul anti-Ki67),

structurile genetice ale B-cell lymphoma 2 (BCL-2+) și Phosphatase and tensin homolog (PTEN+) pot fi modificate, proteina tumorală 53 (p53) poate fi pozitivă în cazurile cu atipii, densitatea celulelor inflamatorii poate fi crescută comparativ cu zona adiacentă endometrului normal: Cluster of differentiation 3/ 20/ 68/ 79 α (CD3+, CD20+, CD68+, CD79 α +) și Triptaza+, toate acestea putând influența structura celulară, histoarhitectura micromediului înconjurător și determina apariția modificărilor premaligne sau chiar maligne în focarele de endometrioză.

Testele imunohistochimice confirmă suspiciunea histologică de endometrioză [Istrate-Ofițeru, A.M., Pirici, D., și colab., 2018].

Material și metode: Secțiunile tisulare obținute similar ca cele pentru studiul histologic, au trecut printr-un proces de recuperare antigenică, de blocare a peroxidazei endogene și blocare a situsurilor de legare nespecifice, apoi secțiunile au fost incubate cu anticorpii primari timp de 18 ore la 4° C, iar a doua zi semnalul a fost amplificat prin utilizarea unui sistem polimeric cu peroxidază timp de 30 minute (Nikirei-Bioscience, Tokyo, Japonia). Semnalul a fost apoi detectat cu 3,3'-diaminobenzidină (DAB) (Dako, Glostrup, Danemarca) și lamele au fost acoperite într-un mediu pe baza de xilen (DPX, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), după colorarea cu hematoxilina.

Imaginile microscopice au fost realizate cu ajutorul unui microscop Nikon Eclipse 55i, echipat cu o cameră foto color CCD, de 5 Mp și au fost analizate cu pachetul software Image ProPlus 7 AMS (Media Cybernetics Inc., Buckinghamshire, UK).

Pentru studiul propus, secțiunile au fost fotografiate în regiunile de interes, cu obiectivele 100 \times , 200 \times , iar pentru cuantificare, s-au realizat 4 imagini cu obiectivul 200 \times pentru fiecare caz. Vasele de sânge și celulele sistemului inflamator au fost numărate pentru fiecare imagine în parte și s-a realizat apoi o medie a densității vasculare/ celulare a cazului. Toate valorile au fost reprezentate grafic și interpretate cu ajutorul programului Microsoft

Excel 2013. Testul ANOVA (ANOVA- analiza variațiilor) a fost utilizat pentru multiple comparații. În toate cazurile, $p < 0.05$ a fost utilizat pentru a indica semnificația statistică.

Rezultate: Cu ajutorul reacțiilor imunohistochemice am demonstrat că țesutul ectopic studiat din punct de vedere microscopic, post-intervențional, este unul de tip endometrial.

Cu ajutorul anticorpului anti-CK7 am arătat că zonele de interes prezintă epiteliu glandular pozitiv, iar pentru a face diagnosticul diferențial cu o eventuală metastaza cu punct de plecare digestiv, am realizat imunomarcajul cu anticorpul anti-CK20, ce a reacționat negativ și a demonstrat că țesutul nu este unul de tip glandular digestiv.

La nivelul celulelor endometriale sunt prezenți ER și PR, iar reacția pozitivă la imunomarcaj demonstrează încă o dată originea endometrială.

Pentru studiul vascularizației peristromale am utilizat anticorpul anti-CD34. Se observă densitatea vasculară crescută perilezional, în special în zonele transformate hiperplazic. Pentru cuantificarea numerică a vaselor de sânge, am realizat câte 4 fotografii, cu obiectiv $\times 200$ pentru fiecare caz, în zonele lezionale – periglandular (la aceeași distanță față de glandele endometriale), în funcție de fiecare localizare a endometriozei și am observat că media densității numerice cea mai mare a fost prezentă în cazul endometriozei peretelui abdominal (23,69 vase CD34+/ $\times 200$), urmată de endometrul normal aflat în fază secretorie (26,06 vase CD34+/ $\times 200$) și de endometrul normal, eutopic aflat în fază proliferativă (23,69 vase CD34+/ $\times 200$), adenomioză (18,6 vase CD34+/ $\times 200$), endometrioză peritoneală/pelvină (4,2 vase CD34+/ $\times 200$) și endometrioză ovariană (2,7 vase CD34+/ $\times 200$).

Pentru studiul ratei de proliferare celulară am utilizat anticorpul anti-Ki67. Am observat că marcajul pentru celulele aflate în diviziune este mai accentuat în zonele cu transformare hiperplazică, comparativ cu endometrul normal sau endometrioza cu diferite localizări, dar fără transformare

hiperplazică.

Pentru studiul transformărilor celulare preneoplazice sau neoplazice am utilizat anticorpul anti-p53 pentru evidențierea exprimării celulare a unei proteine cu rol de supresor tumoral și am observat că acesta este mai intens exprimată în leziunile endometrioze transformate hiperplazic și slab exprimate în cazurile cu endometrioză ovariană sau de perete abdominal.

De asemenea, cu anticorpul anti-BCL-2 am observat în celulele cu potențial evolutiv spre malignitate, exprimarea unei proteine modificate, ce poate avea rol reglator asupra morții celulare programate. Reacția este cu atât mai intensă cu cât s-au produs mai multe modificări genetice, în special la cazurile cu transformare hiperplazică, dar și la cele cu endometrioză ovariană sau de perete abdominal.

La fel ca anticorpul anti-p53, anticorpul anti-PTEN arată celulele modificate, la nivelul cărora s-a activat o genă supresor tumorală, ce este implicată în reglarea ciclului celular, prevenirea creșterii și a diviziunii prea accelerate a celulelor. Am observat că la cazurile cu endometrioză transformată hiperplazic, reacția a fost intensă comparativ cu endometrul normal sau cu leziunile ectopice, dar fără modificări structurale.

Ținând cont de faptul că procesul inflamator poate fi implicat în modificările structurale și funcționale celulare, am utilizat mai mulți anticorpi pentru a determina numărul celulelor inflamatorii din jurul focarelor de endometrioză cu diferite localizări și cele adiacente endometrului normal, astfel am folosit: anticorpul anti-CD3 pentru marcajul limfocitelor T, anticorpul anti-CD20 pentru marcajul limfocitelor B, anticorpul anti-CD68 pentru marcajul macrofagelor, anticorpul anti-Triptază pentru marcajul mastocitelor și anticorpul anti-CD79 α tot pentru marcajul limfocitele B.

Rezultatele obținute le-am comparat și am observat că cea mai mare medie a densității limfocitare de tip T CD3+ a fost întâlnită în cazul endometriozei peretelui abdominal (116,19 celule/ \times 200), urmată de adenomioză (66,27 celule/ \times 200), endometru eutopic aflat în fază secretorie

(16,01 celule/ ×200), endometru eutopic aflat în fază proliferativă (13,56 celule/ ×200), endometrioza peritoneală/ pelvină (12,93 celule/ ×200) și endometrioza ovariană (12,82 celule/ ×200).

Media densității limfocitare de tip B CD20+ a variat astfel: endometrioza peretelui abdominal (34,2 celule/ ×200), adenomioza (9,9 celule/ ×200), endometru eutopic aflat în fază secretorie (4,17 celule/ ×200), endometrioza peritoneală/ pelvină (3,63 celule/ ×200), endometru eutopic aflat în fază proliferativă (2,33 celule/ ×200) și endometrioza ovariană (1,99 celule/ ×200).

Media densității celulare de tip macrofage CD68+ a variat astfel: adenomioza (65,6 celule/ ×200), endometrioza peretelui abdominal (57,66 celule/ ×200), endometru eutopic aflat în fază secretorie (12,11 celule/ ×200), endometrioza peritoneală/ pelvină (11,96 celule/ ×200), endometrioza ovariană (11,94 celule/ ×200) și endometru eutopic aflat în fază proliferativă (10,01 celule/ ×200).

Media densității celulare de tip mastocitar Triptază+ a variat astfel: adenomioza (19,34 celule/ ×200), endometrioza peretelui abdominal (18,81 celule/ ×200), endometrioza peritoneală/ pelvină (4,77 celule/ ×200), endometrioza ovariană (3,51 celule/ ×200), endometru eutopic aflat în fază secretorie (3,45 celule/ ×200) și endometru eutopic aflat în fază proliferativă (2,59 celule/ ×200). De asemenea, media densității celulare de tip limfocitar B CD79α+ a variat astfel: endometrioza peretelui abdominal (29,05 celule/ ×200), adenomioza (12,45 celule/ ×200), endometrioza ovariană (11,82 celule/ ×200), endometrioza peritoneală/ pelvină (9,96 celule/ ×200), endometru eutopic aflat în fază secretorie (8,81 celule/ ×200) și endometru eutopic aflat în fază proliferativă (8,41 celule/ ×200).

Am comparat mediile obținute pentru fiecare categorie și am obținut un rezultat global. Este prezentă o diferență semnificativ statistică, în funcție de localizarea endometriozei, pentru valorile: CD34 - $F(5,179) = 596.510$, $p < 0.001$; CD3 - $F(5,179) = 4291.196$, $p < 0.001$; CD20 - $F(5,179) = 940.025$,

$p < 0.001$; CD68 - $F(5,179) = 758.489$, $p < 0.001$; Triptază - $F(5,179) = 808.694$, $p < 0.001$; CD79 α - $F(5,179) = 448.372$, $p < 0.001$.

Concluzii: Testele imunohistochimice pentru identificarea epiteliului glandular, receptorilor hormonal, proliferării tisulare, dar și cele pentru identificarea proteinelor tumorale, a vascularizației și a celulelor inflamatorii au stat la baza diagnosticării endometriozei cu diferite localizări și evidențierii posibilității de transformare preneoplazică.

Examenul histopatologic are o valoare diagnostică certă și dictează alegerea conduitei terapeutice.

Cu cât producția hormonilor sexuali este mai mare, numărul vaselor de sânge crescut și reacțiile imunohistochimice pozitive pentru celulele liniei inflamatorii: CD3+, CD20+, CD68+, Tryptase, CD79 α +, cu atât crește rata de diseminare a celulelor endometriale.

Celulele diseminate și răspunsul inflamator cauzează cele mai frecvente simptome ale endometriozei: durerea cronică pelvină și infertilitatea.

Prin mediatorii secretați de celulele inflamatorii se produc modificări importante ale histoarhitectoniei micromediului adiacent focarelor de endometrioză/ adenomioză, dar și asupra celulelor endometriale implantate ectopic, putând conduce la apariția atipiilor celulare.

CAPITOLUL VIII: Concluzii finale

Endometrioza/ adenomioza sunt patologii benigne cu origine genitală, care apar mai frecvent la femeile aflate la vârsta fertilă.

Studiul amplu de identificare a structurilor endometriale ectopice și importanța lor în prognosticul bolii au fost țintele urmărite în cadrul acestei teze.

Sub influența anumitor stimuli, anatomiei organelor reproducătoare feminine, proceselor inflamatorii, celulele endometriale viabile pot migra și se pot implanta ectopic, în structura diferitelor organe.

Simptomatologia cea mai frecventă este reprezentată de durerea cronică

pelvină, sângerările vaginale și infertilitatea.

Investigarea corectă și rapidă, alături de aplicarea tratamentului adecvat reduce substanțial riscul infertilității și reduce simptomatologia. Metodele actuale de studiu au o importanță majoră în alegerea conduitei terapeutice și în prognosticul bolii.

O multitudine de factori inflamatori, hormonal, mecanici sunt implicați în apariția și dezvoltarea acestei patologii.

Prin intermediul studiului clinic am observat că vârsta pacientelor poate oscila, că indicele de masa corporală poate influența apariția endometriozei/ adenomiozei, astfel, femeile normoponderale sau subponderale sunt mai predispuse la dezvoltarea acestei patologii, comparativ cu cele supraponderale, din cauza scăderii cantității hormonilor sexuali, iar cele mai multe cazuri de infertilitate primară au fost observate la femeile cu endometrioză ovariană.

În ceea ce privește examenele de laborator, VSH-ul, CA-125 seric pot fi crescute, iar la pacientele cu sângerări abundente poate apărea anemia secundară.

Din punct de vedere microscopic, am observat existența epitelului glandular și stroma periglandulară prezente în structura diferitelor organe, având un aspect asemănător cu țesutul endometrial normal.

Prin studiul imunohistochimic cu ajutorul anticorpilor anti-CK7/ CK20 am demonstrat că țesutul ectopic are origine epitelial-endometrială și că aceste structuri nu sunt eventuale metastaze ale unor tumori gastrointestinale.

Marcajul cu anticorpii anti-ER și anti-PR ne-a demonstrat faptul că zonele studiate sunt focare de endometrioză/ adenomioză. Estrogenul întreține supraviețuirea și diseminarea celulelor endometriozeice, iar prezența ER în structura focarelor de endometrioză/ adenomioză arată cât de răspunzător este țesutul la acest hormon. Pozitivarea recțiilor imunohistochimice cu anticorpii anti-ER și anti-PR pot ghida medicul către aplicarea unui tratament hormonal la pacientele diagnosticate cu această

patologie.

Prezența genelor inhibitoare ale apoptozei celulare (BCL-2, PTEN) cresc rata de diziune celulară (evidențiate cu ajutorul anticorpului anti-Ki67), determinarea sintezei proteinei tumorale 53 intracelulare (evidențiată cu ajutorul anticorpului anti-p53) și răspunsul imun puternic pot influența transformarea malignă a focarelor de endometrioză/ adenomioză.

Procesul inflamator periglandular evidențiat cu ajutorul anticorpilor anti-CD3/ CD20/ CD68/ Triptază/ CD79 α demonstrează implicarea acestuia în evoluția și posibilitatea de transformare preneoplazică prin intermediul mediatorilor secretați, care produc modificări importante ale histoarhitectoniei micromediului adiacent focarelor de endometrioză/ adenomioză, dar și asupra celulelor endometriale implantate ectopic, putând conduce la apariția atipiilor celulare.

Intensa vascularizație periglandulară demonstrează implicarea acesteia în procesele de creștere și proliferare celulară, susține ipoteza sugerată de diseminarea hematogenă, dar poate și influența evoluției celulelor migrate.

Tratamentul eficace al endometriozei rămâne cel chirurgical, suprimându-se astfel durerea cauzată de această patologie și prevenindu-se transformarea preneoplazică/ malignă a focarelor de endometrioză/ adenomioză.

Bibliografie selectivă

Berceanu, C., Ofițeru, A.M., Voicu, L.N., Capitanescu, R., Berceanu, S. *Transformări și condiții maligne asociate endometriozei*. În Berceanu, C., Brătilă, E., Cîrstoiu, M.M., Mehedințu, C. (ed). *Endometrioza*. Ed Medicală Universitară, Craiova, 2018, p. 237-262.

Berceanu, C., *Cap 1. Etiologia, epidemiologia și patogeneza endometriozei*, in *Endometrioza*, Berceanu, C., Brătilă, E., Cîrstoiu, M.M., Mehedințu, C., Editor. 2018, Editura Medicală Universitară Craiova: Craiova. p. 19-37.

Bold, A., Mogoanta, L., Busuioc, C., Mateescu, G.O. *Cap. Aparatul genital feminin*, in *Histologie (Organele)*. 2011, Editura Medicală Universitară Craiova: Craiova. p. 182-186.

Bratilă, E., Coroleucă, E. *Tratamentul chirurgical în endometrioza*. În Berceanu, C., Brătilă, E., Cîrstoiu, M.M., Mehedințu, C. (ed). *Endometrioza*. Ed Medicală Universitară, Craiova. 2018, p. 167-182.

Brătilă, E., Ionescu, O.M., Badiu, D.C., Berceanu, C., Vlădăreanu, S., Pop, D.M., Mehedințu, C. *Umbilical hernia masking primary umbilical endometriosis - a case report*. Rom J Morphol Embryol, 2016. **57**(2 Suppl): p. 825-829.

Comănescu, M., Potecă, A., Comănescu, A. *Cap 3:Aspecte anatomopatologice în endometrioza*. În Berceanu C, Brătilă E, Cîrstoiu MM, Mehedințu C (ed). *Endometrioza*. Ed Medicală Universitară, Craiova, 2018, p. 59-78.

Crăițoiu, Ș. *Cap. IX: Sistemul genital feminin*, in *Curs de Histologie Specială (Sisteme și Organe)*. 2003, Editura Medicală Universitară Craiova: Craiova. p. 295-322.

Crosignani, P.G., Vercellini, P., Biffignandi, F., Costantini, W., Cortesi, I., Imperato, E. Laparoscopy versus laparotomy in conservativ surgical treatment for severe endometriosis. Fertil Steril, 1996, **66**(5):706-11.

D'Hooghe, T.M., Bambra, C.S., De Jonge, I., Lauweryns, J.M., Raeymaekers, B.M., Koninckx, P.R., The effect of pregnancy on endometriosis in baboons (*Papio anubis*, *Papio cynocephalus*). Arch Gynecol Obstet, 1997. **261**(1): p. 15-9.

Efremidou, E.I., Kouklakis, G., Mitrakas, A., Liratzopoulos, N., Polychronidis, ACh. *Primary umbilical endometrioma: a rare case of spontaneous abdominal wall endometriosis*. Int J Gen Med. 2012, **5**: p. 999–1002.

Istrate Ofițeru, A.M., Berceanu, S., Paitici, Ș., Rosu, G.C., Iovan, L., Voicu, N.L., Pirici, D., Mogoantă, L., Vladareanu, R., Mehedintu, C., Bratilă, E., Bratu, O., Berceanu, C. *Endometriosis of the Abdominal Wall - Clinical, Histopathologica and Immunohistochemical Aspects*. Rev Chim, Bucharest. 2019, **70**(8). p. 2860-2865

Istrate-Ofițeru, A.M., Pirici, D., Niculescu, M., Berceanu, C., Berceanu, S., Voicu, N.L., Piringă, G.D., Roșu, G.C., Iovan, L., Căpitănescu, R.G., Dițescu, D., Sava, A., Mogoantă, L., Neacșu, A. *Clinical, morphological and immunohistochemical survey in different types of endometriosis*. Rom J Morphol Embryol, 2018, **59**(4): p. 1133–1153.

Istrate-Ofițeru, A.M., Pîrvan, I.C., Pirici, D., Roșu, G.C., Niculescu, M., Berceanu, S., Manolea, M.M., Comănescu, M.V., Voicu, N.L., Iovan, L., Vasile, M.M., Căpitănescu, R.G., Dițescu, D., Mogoantă, L., Berceanu, C. *Triple immunohistochemistry for assessing the inflammatory, vascular and progression of adenomyosis*. Rom J Morphol Embryol, 2019, **60**(2): in press.

Junqueira, L.C., Carneiro, J. *Cap. 22: Sistemul Reproductiv la Femeie in Histologie, Tratat și Atlas*, Editor: Cuculici, G.P., Gheorghiu A. W. Trad: Ion, R. E., Stoicea, M.C., 2008, Editura Medicală Callisto: București. p. 444-450.

Laux-Biehlmann, A., D'Hooghe, T., Zollner, T.M. *Menstruation pulls the trigger for inflammation and pain in endometriosis*. Trends Pharmacol Sci. 2015, **36**(5): p. 270-276.

Laux-Biehlmann, A., D'Hooghe, T., Zollner, T.M. *Menstruation pulls the trigger for inflammation and pain in endometriosis*. Trends Pharmacol Sci. 2015, **36**(5): p. 270-276.

McKinnon, B.D., Bertschi, D., Bersinger, N.A., Mueller, M.D. *Inflammation and nerve fiber interaction in endometriotic pain*. Trends Endocrinol Metab. 2015, **26**(1): p. 1-10.

McKinnon, B.D., Bertschi, D., Bersinger, N.A., Mueller, M.D. *Inflammation and nerve fiber interaction in endometriotic pain*. Trends Endocrinol Metab. 2015, **26**(1): p. 1-10.

Moore, K.L. Persaud, T.V.N. *The Urogenital System*, in *The Development Human – Clinically Oriented Embryology, 7 ed*, 2003, Ed. Saumnders. p. 304.

Sadler, T.W. *Partea a II-a: Embriologie Specială – Dezvoltarea organelor și sistemelor. Cap. 15 - Sistemul Urogenital.*, în *Embriologie medicală. Editia a-X-a*, Editor. G.P. Cuculici. Trad. Ion, R.E.; Cuculici, Gh.P.; Gheorghiu, A.W., 2007, Editura Medicală Callisto: Bucuresti. p. 239-256.

Shalin, S.C., Haws, A.L., Carter, D.G., Zarrin-Khameh, N. *Clear cell adenocarcinoma arising from endometriosis in abdominal wall cesarean section scar: a case report and review of the literature.* J Cutan Pathol. 2012, **39**(11): p. 1035–1041;

Silverberg, S.G., Tabbara, S.O., *The uterine corpus*, in *Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology*, 5 ed. Silverberg, S.G., DeLellis, R.A., Frable, W.J, LiVolsi, V.A., Wick M.R, Editor. 2006, Ed. Churchill Livingstone Elsevier: Philadelphia. p. 19333-1985.

Steopoe, I. *Embriologia Cordatelor - Dezvoltarea embrionară la mamifere, Homo Sapiens*, in *Citologie Histologie Embriologie*. 1967, Ed. Didactică și Pedagogică: București. p. 371.

Stevens, E.E., Pradhan, T.S., Chak, Y., Lee, Y.C. *Malignant transformation of endometriosis in a cesarean section abdominal wall scar: a case report.* J Reprod Med. 2013, **58**(5-6): p. 264–266;

Walch, K., Unfried, G., Huber, J., Kurz, C., Trotsenburg, M., Pernicka, E., Wenzl, R. *Implanon versus medroxyprogesterone acetate: effects on pain scores in patients with symptomatic endometriosis-a pilot study.* Contraception. 2009, **79**(1): p. 29-34.