

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

TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDIUL CLINIC, HISTOLOGIC ȘI
IMUNOHISTOCHIMIC AL CARCINOAMELOR
COLORECTALE**

REZUMAT

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT
Prof. Univ. Dr. ȘTEFANIA CRĂIȚOIU**

**STUDENT DOCTORAND
CRISTIAN VIRGIL LUNGULESCU**

CRAIOVA - 2017

CUPRINS

INTRODUCERE	3
STADIUL CUNOAȘTERII	
CAPITOLUL 1 Anatomia și histofiziologia intestinului gros	3
1.1. Date de morfologie macroscopică ale intestinului gros	3
1.2. Planul general de organizare al peretelui tubului digestiv subdiafragmatic	4
1.3. Histologia intestinului gros	4
1.4. Vascularizația și inervația intestinului gros	4
1.5. Histofiziologia intestinului gros	5
CAPITOLUL 2 Cancerul colorectal	5
2.1. Epidemiologia cancerului colorectal	5
2.2. Etiopatogenia cancerului colorectal	5
2.3. Mortalitatea prin cancerul colorectal	6
2.4. Stadializarea cancerului colorectal	6
2.5. Diagnosticul cancerului colorectal	6
2.6. Factori de prognostic	6
CONTRIBUȚII PERSONALE	
CAPITOLUL 3 Studiul clinico-epidemiologic și histopatologic al tumorilor Colorectale	7
3.1. Material și metode	7
3.2. Rezultate	7
3.3. Discuții	9
3.4. Concluzii	9
CAPITOLUL 4 Studiul imunohistochimic al tumorilor colorectale	10
4.1. Material și metode	10
4.2. Rezultate	10
4.3. Discuții	11
4.4. Concluzii	12

INTRODUCERE

Cancerul colorectal prezintă o incidență crescută în întreaga lume, reprezentând a doua cauză de deces prin cancer în țările occidentale, dar beneficiază de o terapie țintită. În pofida multor studii existente despre utilizarea largă a anticorpilor sau a genelor cu potențial prognostic și despre trialuri clinice care includ cele mai noi terapii țintite, această patologie prezintă încă multe necunoscute sub aspectul incidenței și al mortalității crescute.

Stadiul tumoral (TNM), tipul/subtipul histologic, gradul de diferențiere și interesarea ganglionilor limfatici, invazia vasculară și perineurală reprezintă parametrii histopatologici cei mai importanți, după cum, imunohistochimic, rolul prognostic al angiogenezei în cancerul colorectal este important, studiile de specialitate stabilind clar relația inversă dintre angieneză și supraviețuire, confirmând faptul că asemănător cancerului mamar CCR este un cancer dependent de angieneză. Atât densitatea microvasculară crescută, cât și expresia factorului de creștere al endoteliului vascular s-au dovedit a fi factori de prognostic negativi independenți de stadiu tumoral, corelându-se cu o supraviețuire globală mai scăzută, dar mai ales cu un interval liber de boală mai scurt.

CAPITOLUL 1

ANATOMIA ȘI HISTOFIZIOLOGIA

INTESTINULUI GROS

1.1. DATE DE MORFOLOGIE MACROSCOPICĂ ALE INTESTINULUI GROS

Intestinul gros este ultima porțiune a tubului digestiv, continuând intestinul subțire și deschizându-se la exterior prin orificiul anal. Este situat în cavitatea peritoneală, între valvula ileocecală și orificiul anal, având o lungime de cca 1.60 m, un diametru care descrește de la 7 cm (la origine) la 3-3.5 cm (porțiunea terminală) și înconjoară ansele intestinale sub forma unui cadru. Structura intestinului gros este adaptată funcției de stocare a rezidurilor rezultate în urma procesului de digestie.

Împărțirea pe segmente a intestinului gros este făcută în funcție de mai multe criterii: dezvoltare ontogenetică, aspecte fiziologice, particularități determinate de practica chirurgicală. Criteriul anatomic-chirurgical este foarte important, fiind dependent de teritoriile vasculare.

1.2. PLANUL GENERAL DE ORGANIZARE AL PERETELUI TUBULUI DIGESTIV SUBDIAFRAGMATIC

De la esofag până la orificiul anal, tractul digestiv prezintă o dispoziție tubulară al cărui diametru diferă în funcție de segmentul anatomic studiat. Componentele sale sunt împărțite într-o regiune supradiafragmatică (conductul faringo-esofagian) ce continuă cavitatea orală și o regiune subdiafragmatică (tractul gastro-intestinal). În afara diferențelor structurale regionale, determinate de funcționalitatea acestora, peretele tubului digestiv prezintă o organizare structurală comună, reprezentată de patru tunici suprapuse: mucoasa, submucoasa, musculara și seroasa sau adventicea.

1.3. HISTOLOGIA INTESTINULUI GROS

Intestinul gros sau terminal (cu o lungime între 1,40 și 2m) este divizat topografic în cec, apendice, colon, rect și canalul anal. Structura peretelui intestinului gros prezintă unele modificări față de restul segmentelor, legate de funcția lui. La acest nivel are loc depozitarea temporară a reziduurilor rezultate în urma digestiei; tot aici au loc și procese de absorbție în special absorbția apei dar și a unor mici cantități de principii nutritive. Deși mucoasa intestinului gros nu produce enzime, totuși procesul de digestie continuă la acest nivel. Digestia la nivelul intestinului terminal este realizată pe de o parte de enzimele provenite din intestinul subțire (care rămân active), iar pe de altă parte, de flora microbiană de fermentație și de putrefacție. Procesele de fermentație, prin flora bacteriană aerobă care se găsește în cec, colonel ascendent și prima jumătate a colonului transvers, realizează digerarea celulozei, iar cele de putrefacție, prin flora anaerobă care se găsește în restul colonului, realizează degradarea proteinelor nedigerate. Sub acțiunea florei aerobe are loc la nivelul intestinului gros sintetizarea unor vitamine din complexul B și vitamina K; prin degradarea proteinelor nedigerate sub acțiunea florei anaerobe se produc substanțe toxice pentru organism (Papilian V, Roșca Gh.V, 1978). Majoritatea bacteriilor din intestinal gros sunt anaerobe.

1.4. VASCULARIZAȚIA ȘI INERVAȚIA INTESTINULUI GROS

Arterele cecului și apendicelui au originea în artera ileocolică, care provine din artera mezenterică superioară. Arterele cecului provin din artera mezenterică superioară, prin artera ileocolică, artera colică dreaptă, artera colică mijlocie și din artera mezenterică inferioară, prin artera colică stângă și arterele sigmoidiene. În vecinătatea cadrului colic, arterele colice se anastomozează și formează arcada paracolică, din care se desprind arterele drepte (lungi și scurte) care irigă arii triunghiulare din suprafața colonului, pe fața anterioară și posterioară a acestuia.

Venele colonului iau naștere la nivelul mucoasei și muscularei, de unde pornesc vene ce însoțesc arterele omonime vărsându-se în venele mezenterică superioară și inferioară, care la rândul lor se varsă în vena portă.

Arterele rectului sunt reprezentate de arterele rectale, frecvent denumite și arterele hemoroidale. Acestea sunt în număr de trei, artera rectală superioară, mijlocie și inferioară. Cea mai importantă dintre acestea este artera rectală superioară, celelalte având rol accesoriu.

1.5. HISTOFIZIOLOGIA INTESTINULUI GROS

Deși principala funcție este motricitatea, intestinul gros prezintă și funcții digestive (absorbție, secreție, degradarea alimentelor), participă la apărarea organismului prin foliculii limfatici: funcția de motricitate, funcția de absorbție, funcția de secreție, funcția de digestie.

CAPITOLUL 2

CANCERUL COLORECTAL

2.1. EPIDEMIOLOGIA CANCERULUI COLORECTAL

Cancerul colorectal reprezintă o problemă importantă de sănătate publică deoarece există aproape un milion de cazuri noi de cancer colorectal diagnosticate la nivel mondial în fiecare an și o jumătate de milion de decese cauzate de această afecțiune. Rapoartele recente arată că, în Statele Unite, a fost cea mai frecventă formă de cancer în rândul persoanelor în vârstă de 75 ani și peste. Dat fiind faptul că majoritatea cancerelor apar la persoanele în vârstă, această observație dă un impuls suplimentar pentru investigarea strategiilor de prevenire și de tratament în acest subgrup al populației. Deși există multe întrebări care trebuie rezolvate, multe fațete ale cancerului colorectal devin din ce în ce mai înțelese și perspectivele de prevenire devin evidente (World Health Organization, 2011).

Cancerul colorectal este al treilea cel mai frecvent cancer la bărbați (746,000 cazuri, 10,0% din total) și al doilea la femei (614.000 de cazuri, 9,2% din total) la nivel mondial. Aproape 55% din cazuri apar în regiunile mai dezvoltate. Există o variație de 10 ori mai mare a incidenței în întreaga lume, iar modelele sunt foarte similare la bărbați și femei, cu cele mai mari rate în Australia / Noua Zeelandă (ASR 44,8 și 32,2 la 100.000 de bărbați și respectiv femei), iar cea mai mică în Africa de Vest (4,5 și 3,8 la 100.000) (Bray F, 2014).

2.2. ETIOPATOGENIA CANCERULUI COLORECTAL

Cancerul colorectal (CCR) se dezvoltă printr-un proces multistadial, care rezultă din acumularea progresivă a mutațiilor genetice, și în mod frecvent ca urmare a unor mutații în calea de semnalizare Wnt. Cu toate acestea, a devenit evident în ultimele două decenii, ca modificările epigenetice ale

cromatinei, în special componentele cromatinei din regiunile promotoare ale genelor supresoare de tumori și oncogenelor, joacă un rol-cheie în patogeneza CRC.

2.3. MORTALITATEA PRIN CANCERUL COLORECTAL

Ratele de deces prin cancer colorectal au fost în scădere din 1980 la bărbați și la femei din 1947.

2.4. STADIALIZAREA CANCERULUI COLORECTAL

Actualul sistem de stadializare pentru cancerul colorectal care ar trebui utilizat acum, este sistemul de clasificare TNM. Sistemul TNM clasifică tumorile colorectale pe baza invazivității (nu dimensiunii) tumorii primare (etapa T), numărul (nu mărimea sau localizarea) a ganglionilor loco-regionali pozitivi (etapa N), și prezența sau absența de boală metastatică, la distanța (stadiu M) (DeVita VT, Lawrence JTS, Rosenberg SA, 2014).

2.5. Diagnosticul cancerului colorectal

Simptomele asociate cu cancerul colorectal includ sângerări gastro-intestinale, modificarea tranzitului intestinal, dureri abdominale, scădere în greutate, schimbarea apetitului, și slăbiciune, și, în special, simptome de obstrucție sunt alarmante (Stein W, Farina A, Gaffney K et al. 1993). Cu toate acestea, în afară de simptome obstructive, alte simptome nu se corelează neapărat cu stadiul bolii sau prevestesc un diagnostic particular (Majumdar SR, Fletcher RH, Evans AT, 1999).

Dupa stabilirea diagnosticului și a stadiului bolii, atât pentru tumorile de colon și tumorile rectale, este esențial să se discute cea mai bună variantă terapeutică împreună cu medicul oncolog, radioterapeut și chirurg oncolog, în scopul de a formula și de a pune în aplicare un plan de tratament optim (DeVita VT, Lawrence JTS, Rosenberg SA, 2014).

2.6. FACTORI DE PROGNOSTIC

Colegiul american de anatomo-patologică (PAC) a publicat o declarație de consens care prezintă interpretarea lor în ceea ce privește validitatea și utilitatea unui număr mare de factori de prognostic și predicție în cancerul colorectal. Variabilele au fost clasificate ca aparținând categoriilor I-IV (Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ et al, 1999).

Cel mai important factor de prognostic rămâne și astăzi stadializarea TNM, inclusă și în declarația de consens PAC ca și factor de categoria I.

Cu toate că au existat rapoarte contradictorii în literatura de specialitate, declarația de consens a PAC a dat invazia vasculară și limfatică ca și categoria I, ceea ce indică faptul că preponderența probelor sprijină cu fermitate că prezența acestora reprezintă indicatori de prognostic nefavorabil.

CAPITOLUL III

STUDIUL CLINICO-EPIDEMIOLOGIC ȘI HISTOPATOLOGIC AL TUMORILOR COLORECTALE

3.1. MATERIAL ȘI METODE

Studiul realizat a fost analitic și prospectiv și a inclus un număr de 259 de pacienți cu diagnosticul de carcinom colo-rectal (CRC) internați în clinicile de chirurgie ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova și a centrului de oncologie ONCOLAB Craiova pentru investigații și tratament într-un interval de doi ani, 2014-2015. Fragmentele prelucrate pentru studiul histopatologic au provenit din piesele de rezecție chirurgicală, fie prin colonoscopie.

Criteriile de includere în studiu au fost reprezentate de diagnosticul de carcinom colo-rectal, stabilit prin examen histopatologic efectuat în cadrul Laboratorului de anatomie patologică al Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova și statutul de tumoră primitivă, pacienții ne având antecedente tumorale sau de chimio-, radio- sau imunoterapie.

3.2. REZULTATE

Vârsta medie la bărbații studiați a fost de 66.16 ani, respectiv de 64.43 ani la femei, valori medii rezultate fiind destul de apropiate, (t-test: Two Sample Assuming Unequal Variances: $p > 0.05$, fără semnificație statistică), putem nota însă o vârstă mai mică de diagnostic la femei decât la bărbați.

Pentru lotul studiat putem afirma că nu există o diferență semnificativă între cele două sexe în ceea ce privește incidența în funcție de decadele de vârstă ale pacienților investigați.

Femeile au prezentat localizarea neoplaziei la nivelul colonului drept (cec, ascendent, flexură hepatică) în 37.64% din cazurile studiate la sexul feminin, mai frecvent decât la bărbați, care au avut în doar 22.66% din cazuri această localizare. La nivelul colonului transvers procentul a fost mai crescut pentru bărbați 6% vs. 3.52% pentru femei. La nivelul colonului stâng procentele au înclinat spre sexul masculin – 39.99% față de 28.21% pentru femei; de asemenea este important de precizat faptul că la nivelul colonului descendent a fost cea mai evidentă diferență între cele două sexe: bărbați 28 cazuri – 18.66% în timp ce au fost doar 3 cazuri la femei – 3.52%. Proporții relativ egale s-au găsit la nivelul rectului și de joncțiune rectosigmoidiană: 30.58% pentru femei și 31.32% pentru bărbați.

Aspectul macroscopic al tumorii a fost descris la un număr total de 193 pacienți (74.23%), distribuite astfel: tumori vegetante au fost evidențiate la 23 cazuri – 11.91%, tumori ulcero-vegetante la 55 cazuri – 28.49%, tumori ulcerative 42 cazuri – 21.76%, tumori infiltrative 28 cazuri – 14.50%, tumori infiltrative ulcerate 39 cazuri – 20.20%, tumori vegetante și infiltrative 6 cazuri – 3.10%. Componenta ulcerativă cea mai frecvent întâlnită, 136 cazuri - (70.46%).

Din cei 178 de pacienți la care am putut determina dimensiunea tumorală, 72 au fost femei și 106 bărbați. Pentru tumorile ≤ 5 cm pentru bărbați s-au identificat 70 cazuri (66.03%) și pentru femei 42 cazuri (58.33%); pentru tumorile între 5-10 cm: 28 cazuri la bărbați (26.41%), 20 cazuri la femei (27.77%); tumorile ≥ 10 cm: 8 cazuri la bărbați (7.54%) și 10 cazuri la femei (13.88%). Media globală a dimensiunilor tumorale la pacienții studiați a fost de 5.26 cm, fiind puțin mai mare pentru femei, 5.56 cm și 5.06 cm pentru bărbați.

Tipul histopatologic a fost stabilit la 251 de cazuri. Tipul histopatologic cel mai frecvent a fost adenocarcinomul (Adc) fără alte precizări, acesta fiind prezent la 225 de pacienți (89.64%). În 14 cazuri diagnosticul histopatologic stabilit a fost de adenocarcinom mucosecretant (5.57%), la 5 cazuri (1.99%) diagnosticul histopatologic stabilit a fost de adenocarcinom tubulo-papilar, 2 cazuri de adenocarcinom cu pattern vilos (0.79%), 2 cazuri de adenocarcinom cu celule mici (0.79%), 1 caz de adenocarcinom cu celule în inel cu pecete (0.39%), un caz de carcinom nediferențiat (0.39%) și 1 carcinom adenoscuamos (0.39%).

Din cele 260 de cazuri studiate, 245 au fost eligibili pentru depistarea gradului de diferențiere: 52 de probe examinate au fost clasate ca G1 (bine diferențiat) – 21.22%, 143 cazuri G2 (moderat diferențiat) - 58.37%, 49 cazuri G3 (slab diferențiat) -20% și un singur caz G4 (nediferențiat) – 0.40%.

Global, pentru ambele sexe, la 253 de pacienți a fost făcută evaluarea tumorii: 2 pacienți cu tumoră clasificată T1 (0.79%), 37 cu tumoră clasificată T2 (14.62%), 179 pacienți cu tumoră clasificată T3 (70.75%), 33 pacienți cu tumoră clasificată T4 (13.04%). Pentru bărbați: 2 pacienți au avut tumori clasificate T1 (1.26%), 22 pacienți tumoră T2 (13.92%), 111 tumoră T3 (70.25%), 23 cazuri cu tumoră T4 (14.55%). La femei: nicio pacientă nu a prezentat tumoră clasificată T1, 15 paciente au avut tumoră clasificată T2 (16.12%), 68 paciente tumoră clasificată T3 (73.11%), 10 paciente tumoră clasificată T4 (10.75%).

Examinarea ganglionilor loco-regionali s-a efectuat în 209 cazuri (80.69%). Clasificarea acestora s-a realizat în funcție de criteriile de stadializare elaborate de AJCC (American Joint Committee on Cancer), după cum urmează:

- N0 (fără metastaze în ganglionii loco-regionali): 79 cazuri – 30.50 %;
- N1 (metastaze în 1-3 ganglioni loco-regionali): 62 cazuri – 23.93 %;
- N2 (metastaze în 4 sau mai mulți ganglioni): 68 cazuri – 26.25 %;

- Nx (nu s-a făcut determinarea invaziei ganglionilor loco-regionali): 46 cazuri, reprezentând – 22.11%.

Stadializarea corectă și completă am putut să o facem la 212 din cei 260 pacienți și am obținut următoarele rezultate: 19 pacienți în stadiul I (8.96%), 56 pacienți stadiul II (26.41%), 85 pacienți stadiul III (40.09%), 52 pacienți stadiul IV (24.52%).

3.3. DISCUȚII

Creșterea ratelor de incidență în mai multe țări din Europa de Est și Asia se presupune că reflectă condițiile de viață, modificările de dieta și ale stilului de viață asociate cu occidentalizarea, inclusiv fumatul și obezitatea. Unul din factorii care ar putea explica această diferență întâlnită între studiul nostru și rata de incidență exprimată la nivel național poate fi legată de un important factor de risc – obezitatea și supraponderea. Obezitatea și aportul caloric total sunt factori de risc independenți pentru cancerul colo-rectal (Giovannucci E, 2002; Giovannucci E, 2003) așa cum arată studiile prezente (Singh PN, Fraser GE, 1998; Slattery ML, Potter J, Caan B, et al, 1997) și de asemenea se pare că această relație este mai proeminentă la bărbați decât la femei (Renehan AG, Flood A, Adams KF, et al, 2012).

În studiul pe care l-am efectuat vârstele pacienților au fost cuprinse în intervalul de vârstă 37-91 ani, cu o medie de vârstă de 65.53 ani. Media vârstei la sexul masculin pentru cazurile studiate a fost de 66.16 ani mai mare decât cea pentru sexul feminin care a fost de 64.43 ani. Ratele sunt în scădere în rândul adulților de 50 de ani și mai în vârstă, dar crește numărul de cazuri noi la persoanele sub 50. Motivele acestei tendințe sunt încă necunoscute, dar se pot reflecta prin prevalența crescută a obezității și a alimentației nefavorabile la copii și tinerii adulți.

Din datele obținute reținem că nu au fost diferențe din punct de vedere statistic pentru regiunile colonului clasificate ca și colon drept și stâng, rezultatele obținute de noi susțin datele studiilor efectuate la nivel global și întăresc tendința de creștere a proporției cancerelor de colon drept.

În rezultatele obținute în lucrarea curentă tipul histopatologic cel mai frecvent a fost adenocarcinomul fără alte precizări, diagnosticat în aproximativ 90% din cazuri, ceea ce se corelează cu datele obținute în alte studii histologice.

Cu toate că au fost identificați mai mulți factori care au un impact asupra supraviețuirii și ratei de recurență nici una nu depășește stadializarea în termeni de importanță și prognostic (Compton CC, 2002). Stadializarea cancerului colo-rectal ar trebui să se facă folosind clasificarea curentă TNM (tumora, nodul, metastaze) a **American Joint Committee on Cancer** (Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al., 2010).

3.4. CONCLUZII

Am realizat un studiu analitic și prospectiv pe un număr de 259 de pacienți cu diagnosticul de carcinom colo-rectal (CRC) într-un interval de doi ani, 2014-2015.

Analiza distribuției carcinoamelor colorectale a arătat că decada de viață cea mai afectată a fost cea între 60-70 ani, iar pe sexe a indicat predominanța netă a pacienților de sex masculin (164 de cazuri - 63.32%) comparativ cu pacienții de sex feminine (95 cazuri - 36.67%) fără să existe diferențe statistice privind vârsta în funcție de sex.

Tipul histopatologic cel mai frecvent a fost adenocarcinomul fără alte precizări, alături de adenocarcinom mucosecretant, adenocarcinom tubulo-papilar, adenocarcinom cu pattern vilos, adenocarcinom cu celule mici, adenocarcinom cu celule în inel cu pecete, carcinom nediferențiat și carcinom adenoscuamos.

Tumorile moderat diferențiate au fost majoritare în toate tipurile de tumori, indiferent de aspectul microscopic. Cel mai frecvent tumorile bine diferențiate au fost evidențiate la nivelul tumorilor vegetante iar tumorile slab diferențiate au fost cel mai frecvent întâlnite în cazul tumorilor infiltrative.

Am constatat o creștere directă a potențialului unei tumori cu un grad de diferențiere mai scăzut să invadeze una din structurile studiate (vasculară, perineurală, limfatică), ceea ce reprezintă factori de prognostic negativi în cancerul colo-rectal.

Am concluzionat că pacienții care au prezentat tumori vegetante s-au prezentat cel mai frecvent fără invazia ganglionilor loco-regionali (60.86%) la polul opus situându-se pacienții cu tumoră infiltrativă care în 67.85% din cazuri au prezentat invazia ganglionilor loco-regionali. De asemenea este de notat faptul că invazia ganglionilor loco-regionali clasificată ca N1 (1-3 ganglioni) a fost cel mai frecvent întâlnită în cazul tumorilor vegetante și infiltrative iar invazia ganglionară clasificată ca N2 (>4 ganglioni) a fost cel mai frecvent întâlnită în cazul tumorilor ulcerate (40.47%) precum și faptul că la tumorile vegetante nu a fost întâlnită invazie ganglionară N2 și doar în 17.23% cazuri invazie N1.

Datele au arătat o corelație evidentă între potențialul de metastazare ganglionară și gradul de diferențiere tumorală, la tumorile bine diferențiate pacienții s-au prezentat în 41.02% din cazuri cu invazie ganglionară, pentru tumorile moderat diferențiate în 60.52% din cazuri au avut invazie ganglionară iar tumorile slab diferențiate chiar într-un procent de 80% au avut metastaze în ganglioni loco-regionali.

CAPITOLUL 4

STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL TUMORILOR COLORECTALE

4.1. MATERIAL ȘI METODE

Analiza imunohistochimică s-a realizat pe un lot de 60 de cazuri de adenocarcinom colorectal care au provenit din lotul analizat clinic și histopatologic, pacienți la care s-a realizat rezecția tumorii sau fragmentele tumorale au provenit prin examen endoscopic.

4.2. REZULTATE

Am urmărit procesul de angiogeneză tumorală folosind următorii markeri imunohistochimici: CD31, CD105 și expresia VEGF (vascular endothelial growth factor). Aceștia pot să reprezinte factori de apreciere a prognosticului, chiar independent de stadiul tumoral.

Pentru a evalua progresia bolii și prognosticul bolii, am determinat microdensitatea vasculară folosind ca marker CD105 și CD31.

După evaluarea zonelor specifice, cu toata variabilitatea existenta între măsurătorile individuale, aria media a vaselor marcate cu CD105+ a fost semnificativ mai mica în tesuturile marginilor de rezecție neinvadate tumoral (mucoasa colica normala) $-495.28 \pm 225.87 \mu\text{m}^2$, decât cea din esantioanele invadate tumoral $- 2638 \pm 976.23 \mu\text{m}^2$ (t Test, $p < 0.01$).

Rezultatele obtinute folosind marcajul CD31 pentru aria vascularizatiei tumorale au fost mai mari decât pentru cele obtinute cu marcajul CD105, fara a fii inasa semnificative ($3150.5 \pm 890.35 \mu\text{m}^2$). Acest lucru este normal, având în vedere faptul că CD31 marchează atât vasele preexistente, mature, cât și pe cele tinere, de neoformație.

Variațiile CD31 între cele 3 grade de diferențiere intalnite nu sunt considerabile; cu toate acestea, rezultatele oferite prin marcajul cu CD31 sunt ușor mai scăzute pentru G1 (165.44) în comparație cu G2 (170.63), și mai mici pentru G2 în comparație cu G3 (172.29).

Am constatat inasa, că diferențele dintre cele 3 grade de diferențiere pentru CD105 sunt semnificative, ceea ce poate face din CD105 un instrument valoros pentru evaluarea gradelor de diferențiere în cancerul colorectal. G1 – 109.7, G2 – 139.23, G3 – 166.42.

O diferență semnificativă a fost înregistrata între cele trei niveluri ale stadiului T s-a constatat la pacienții din studiul nostru în ceea ce privește valoarea markerului CD105, pentru care am obținut următoarele rezultate: T2 117.54, T3: 144.56, T4: 153.26.

Pentru markerul CD31 nu am identificat o diferență semnificativă între cele trei niveluri ale stadiului T întâlnite la pacienții studiat, rezultatele obținute fiind următoarele: T2 - 161.45, T3: 170.55, T4: 176.35.

În ceea ce privește intensitatea imunoexpresiei VEGF, am împărțit cazurile întâlnite în 2 categorii: negativ sau slab pozitiv și pozitiv cu intensitate moderată și intens pozitiv. Astfel cazurile studiate s-au împărțit aproximativ în mod egal în cele două categorii: 33 cazuri – negativ sau slab pozitive (55%) și 27 cazuri cu intensitate modarată sau intens pozitive (45%).

Din punct de vedere al relației cu aria vasculară întâlnită, rezultate obținute nu au indicat nicio corelație între intensitatea exprimata VEGF și aceasta.

4.3. DISCUȚII

Angiogeneza este un proces complex de dezvoltare a vaselor de neoformație implicate în proliferarea și creșterea tumorale (Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, et al, 2000). Diversele cai și

molecule implicate in angiogeneza, formarea de noi vase de sânge, au fost studiate atât pentru cunoașterea și înțelegerea evoluției cancerului colorectal (Folkman J., 2002) cât și pentru a dezvolta terapii moleculare noi (Efstathios T Pavlidis, Theodoros E Pavlidis, 2013).

Vascularizația țesutului tumoral este mult mai crescută comparativ cu cea a unui țesut normal. Procesul de formare de noi vase pornind de la vasele existente sau procesul de angiogeneză, participă în neoplazii, atât prin aportul de substanțe nutritive și factori de creștere cât și ca un mijloc de diseminare pentru celule tumorale.

Studiul nostru imunohistochimic privind colorația cu CD 105 confirmă că aria vasculară din tumorile colorectale este semnificativ mai mare comparativ cu aria vasculară din mucoasa colică normală ($p < 0,01$). Vasele pozitive pentru CD105 s-au dovedit a fi într-un număr mai mare și să aibă un diametru semnificativ mai mare intratumoral în comparație cu vasele normale ale mucoasei colice, date care confirmă prezența procesului de angiogeneza.

Atât densitatea microvasculară crescută, cât și expresia VEGF s-au dovedit a fi factori de prognostic negativ independenți de stadiu tumoral, corelându-se cu o supraviețuire globală mai scăzută, dar mai ales cu un interval liber de boală mai scurt.

4.3. CONCLUZII

Am urmărit în cancerul colorectal procesul de angiogeneză tumorală folosind următorii markeri imunohistochimici: CD31, CD105 și expresia VEGF (vascular endothelial growth factor). Dacă CD105 marchează prezența vaselor tinere, CD31 evidențiază, atât vasele mature preexistente cât și vasele de neoformație.

Cuantificarea angiogenezei intratumorale am făcut-o prin evaluarea densității microvasculare (VD - vascular density), folosind colorații imunohistochimice pentru CD31 și CD105 și prin evaluarea expresiei factorului de creștere al endoteliului vascular (VEGF - vascular endothelial growth factor).

Studiul imunohistochimic realizat asupra procesului de angiogeneză în cancerul colorectal, reprezintă o integrare dinte cercetarea fundamentală și clinica medicală de specialitate, prin care, cercetarea fundamentală a reușit să transfere către clinică informații utile care să aducă beneficii terapeutice și implicit să amelioreze prognosticul acestor pacienți