

UNIVERSITATEA "OVIDIUS" DIN CONSTANȚA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ
DOMENIUL MEDICINĂ
ANUL UNIVERSITAR 2020-2021

TEZĂ DE DOCTORAT REZUMAT

Imunofenotiparea endometriozei cu ajutorul biomarkerilor CD45 și CD8, folosind inteligența artificială

Conducător de doctorat: **Prof. Univ. Habil. Dr. Vlad Iustin Tica**

Doctorand: **As. Univ. Dr. Liliana Migit (Steriu)**

CONSTANȚA

2021

CUPRINSUL TEZEI

Cuprins

I. INTRODUCERE.....	Error! Bookmark not defined.
II. PARTEA GENERALĂ.....	Error! Bookmark not defined.
II.1. NOȚIUNI DE ANATOMIE	Error! Bookmark not defined.
II.1.1. Etapele dezvoltării sistemului genital feminin	Error! Bookmark not defined.
II.1.2. Cavitata pelvină și conținutul său.....	Error! Bookmark not defined.
II.1.2.1. Ovarele	Error! Bookmark not defined.
II.1.2.2. Trompele uterine	Error! Bookmark not defined.
II.1.2.3. Uterul.....	Error! Bookmark not defined.
II.1.2.4. Vaginul	Error! Bookmark not defined.
II.1.2.5. Vulva	Error! Bookmark not defined.
II.2. ENDOMETRIOZA – ASPECTE GENERALE	Error! Bookmark not defined.
II.2.1. Definiție. Localizare.....	Error! Bookmark not defined.
II.2.2. Simptomatologie	Error! Bookmark not defined.
II.2.3. Anatomie patologică	Error! Bookmark not defined.
II.2.4. Endometrioza și infertilitatea	Error! Bookmark not defined.
II.2.5. Clasificarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
II.3. DIAGNOSTICUL ENDOMETRIOZEI	Error! Bookmark not defined.
II.3.1. Diagnosticul clinic al endometriozei	Error! Bookmark not defined.
II.3.2. Investigații paraclinice	Error! Bookmark not defined.
II.3.3. Diagnosticul diferențial al endometriozei	Error! Bookmark not defined.
II.4. TRATAMENTUL ENDOMETRIOZEI.....	Error! Bookmark not defined.
II.4.1. Tratamentul medicamentos	Error! Bookmark not defined.
II.4.2. Tratamentul chirurgical	Error! Bookmark not defined.
II.4.3. Tratamentul infertilității asociate endometriozei	Error! Bookmark not defined.
II.5. DATE DIN LITERATURĂ.....	Error! Bookmark not defined.
II.6. IMUNOLOGIE – NOȚIUNI DESPRE MARKERII CD8 ȘI CD45.....	Error! Bookmark not defined.
II.7. PATOLOGIA DIGITALĂ.....	Error! Bookmark not defined.
III. OBIECTIVE.....	Error! Bookmark not defined.
IV. MATERIAL ȘI METODĂ	Error! Bookmark not defined.
IV.1. Pacienți și metode.....	Error! Bookmark not defined.
IV.1.1. Study design.....	Error! Bookmark not defined.

IV.1.2. Criterii de eligibilitate și de excludere	Error! Bookmark not defined.
IV.2. Prelucrarea materialului histopatologic	Error! Bookmark not defined.
IV.3. Examenul imunohistochimic	Error! Bookmark not defined.
IV.3.1. Examenul imunohistochimic și biomarkerii utilizați	Error! Bookmark not defined.
IV.3.2. Metode de cuantificare a expresiei imunomarkerilor	Error! Bookmark not defined.
V. REZULTATE	Error! Bookmark not defined.
V.1. Analiza tipurilor de simptomatologie prezentate de către paciențele incluse în studiu	Error! Bookmark not defined.
V.1.1. Analiza tipurilor de simptomatologie prezentate de paciențele incluse în studiu în relație cu mediul de proveniență, rural sau urban	Error! Bookmark not defined.
V.1.2. Analiza simptomatologiei prezentate de paciențele incluse în studiu în relație cu paritatea	Error! Bookmark not defined.
V.1.3. Analiza simptomatologiei prezentate de paciențele incluse în relație cu localizarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
V.1.4. Analiza simptomatologiei prezentate de paciențele incluse în studiu în funcție de vârstă	Error! Bookmark not defined.
V.1.5. Analiza simptomatologiei prezentate de paciențele incluse în studiu în funcție de valoarea hemoglobinei	Error! Bookmark not defined.
V.1.6. Analiza valorii hematocritului în funcție de simptomatologia prezentată de paciențele incluse în studiu	Error! Bookmark not defined.
V.1.7. Analiza valorii trombocitelor în funcție de simptomatologia prezentată de paciențele incluse în studiu	Error! Bookmark not defined.
V.1.8. Analiza valorii leucocitelor în funcție de simptomatologia prezentată de paciențele incluse în studiu	Error! Bookmark not defined.
V.2. Analiza celor trei localizări ale endometriozei studiate	Error! Bookmark not defined.
V.2.1. Analiza localizării endometriozei în relație cu paritatea	Error! Bookmark not defined.
V.2.2. Analiza valorilor hemoglobinei în funcție de localizarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
V.2.3. Analiza paciențelor cu hemoglobină normală versus anemie în funcție de localizarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
V.2.4. Analiza valorilor hematocritului în funcție de localizarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
V.2.5. Analiza valorii trombocitelor în funcție de localizarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
V.2.6. Analiza valorii leucocitelor în funcție de localizarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
V.3. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial	Error! Bookmark not defined.
V.3.1. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de localizarea endometriozei	Error! Bookmark not defined.
V.3.2. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de simptomatologie	Error! Bookmark not defined.

- V.3.3. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de hemoglobină și localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.3.4. Comparatie între valorile biomarkerului CD45 din compartimentul intraepitelial la pacientele anemice versus cele cu valori normale ale hemoglobinei în cele 3 localizări analizate **Error! Bookmark not defined.**
- V.3.5. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de leucocite **Error! Bookmark not defined.**
- V.3.6. Comparatie între valorile biomarkerului CD45 din compartimentul intraepitelial la pacientele cu leucocitoză versus cele cu valori normale ale leucocitelor în cele 3 localizări analizate **Error! Bookmark not defined.**
- V.4. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal **Error! Bookmark not defined.**
- V.4.1. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.4.2. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de simptomatologie..... **Error! Bookmark not defined.**
- V.4.3. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de valoarea hemoglobinei și localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.4.4. Analiza expresiei biomarkerului CD45 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de valoarea leucocitelor și localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.5. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial **Error! Bookmark not defined.**
- V.5.1. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.5.2. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de simptomatologie **Error! Bookmark not defined.**
- V.5.3. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de valoarea hemoglobinei și localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.5.4. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul intraepitelial în funcție de valoarea leucocitelor și localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.6. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal **Error! Bookmark not defined.**
- V.6.1. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.6.2. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de simptomatologie..... **Error! Bookmark not defined.**
- IV.6.3. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de valoarea hemoglobinei și localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**
- V.6.4. Comparatie între valorile mediane ale expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal la pacientele anemice versus cele cu valori normale ale hemoglobinei în cele 3 localizări analizate **Error! Bookmark not defined.**

V.6.5. Analiza expresiei biomarkerului CD8 la nivelul limfocitelor T din compartimentul stromal în funcție de leucocite și localizarea endometriozei **Error! Bookmark not defined.**

VI. DISCUȚII..... **Error! Bookmark not defined.**

VII. CONCLUZII **Error! Bookmark not defined.**

CONCLUZII GENERALE **Error! Bookmark not defined.**

LISTA FIGURILOR **Error! Bookmark not defined.**

LISTA TABELELOR **Error! Bookmark not defined.**

LISTA ABREVIERILOR **Error! Bookmark not defined.**

BIBLIOGRAFIE **Error! Bookmark not defined.**

ANEXE **Error! Bookmark not defined.**

Cuvinte cheie: endometrioză, adenomioză, CD45, CD8, biomarkeri, endometrioză de perete abdominal.

REZUMATUL TEZEI

INTRODUCERE

Reprezentată prin apariția unor insule de țesut endometrial funcțional cu altă localizare decât cavitatea uterină, endometrioza este cea mai des întâlnită patologie benignă a femeii, localizată la nivelul peritoneului și organelor pelvine. Este asociată frecvent cu durere pelvină (dismenoree, algii pelvine cronice, dispreunie), sângerări anormale și infertilitate.

Metodă invazivă, dar totodată cea mai sigură, laparoscopia, reprezintă standardul de aur în diagnosticarea endometriozei. Laparoscopia se preferă ca intervenție de elecție, întrucât poate fi folosită atât pentru diagnostic, cât și pentru tratamentul și stadializarea endometriozei.

Scopul principal al acestei lucrări este explorarea imunohistochimică a endometriozei localizate în diverse țesuturi: ovarian, peritoneal, țesutul muscular striat (mușchii drepti abdominali), țesutul muscular neted (miometrul) și analiza răspunsului inflamator al organismului față de prezența țesutului endometrial ectopic raportat la diverse localizări. Originalitatea tezei constă în faptul că inflamația la nivelul endometriozei parietale a fost foarte puțin studiată clinic, imagistic și morfopatologic. Nu am găsit date în literatură despre studiul imunohistochimic al endometriozei de perete cu cei doi markeri pe care i-am folosit, CD45 și CD8, ceea ce face această teză unică. Altă notă de originalitate este realizarea de corelații între expresia imunohistochimică a biomarkerilor pe de o parte și simptomatologia, localizarea endometriozei și datele paraclinice cu care s-au prezentat pacientele.

Folosirea inteligenței artificiale în studiu este o noutate, aducând un plus de valoare tezei.

Teza este alcătuită din două părți: partea generală și partea specială.

PARTEA GENERALĂ

În partea generală am cuprins noțiuni despre anatomia organelor genitale, despre endometrioză, despre imunologie și inteligența artificială.

Endometrioza este o patologie fascinantă pe care depunem mari eforturi pentru a o înțelege. Tehnicile moleculare încep să lumineze nivelul de cunoaștere a bolii: de la patogeneză până la stadializarea bolii. Afirmatia că endometrioza este un precursor al cancerului este întărită de faptul că mutațiile întâlnite în cancerele asociate endometriozei sunt întâlnite și în leziunile endometrioze adiacente.

Studii genetice recente sugerează că endometrioza pelvină infiltrativă reprezintă un neoplasm benign care se extinde local mai degrabă decât metastazează. Este nevoie de studii mai aprofundate pentru a elucida aberațiile diverse ce apar la acest fenotip.

Endometrioza afectează femeia de vârstă reproductivă și reprezintă țesut endometrial activ (glande endometriale și stromă) în afara endometrului. Acest țesut ectopic, teoretic, poate fi întâlnit la orice nivel, dar cel mai des el se va găsi în pelvis, și mai rar, la nivel pulmonar sau cerebral. Adenomioza reprezintă localizarea țesutului endometrial la nivelul mușchiului uterin.

Etiopatogenia endometriozei rămâne încă incomplet cunoscută, în ciuda faptului că în ultima perioadă au fost acumulate numeroase informații în legătură cu această afecțiune. Totuși, există câteva teorii clasice care oferă explicații cu privire la patogeneză endometriozei, la care se adaugă posibilitatea asocierii factorilor imunologici, genetici și hormonal.

Sistemul imunitar este reprezentat de totalitatea mecanismelor de apărare ale organismului împotriva agenților patogeni și a structurilor non-self.

În acest studiu, se utilizează anticorpi monoclonali ce provin de la șoareci, iar specia pe care s-a realizat studiul este cea umană, nefiind studiat și la alte specii. Izotipul este IgG2a/kappa, localizat la nivelul membranei celulare, iar epitopul sau antigenul este CD45RO.

CD45 este o enzimă denumită și Antigen leucocitar comun (leukocyte common antigen). CD45 aparține grupului enzimatic Protein-Tirozin-Fosfataze (PTP) care sunt molecule ce reglează o varietate de procese celulare cum ar fi: creșterea celulară, diferențierea, ciclul mitotic și oncogeneza. CD45 este prezentă în multiple izoforme în toate celulele hematopoietice diferențiate (cu excepția eritrocitelor și celulelor plasmactice) și este, de asemenea, un regulator esențial al antigenelor celulelor T și B.

CD8 este un marker limfocitar care recunoaște antigenul doar dacă este asociat cu moleculele *MHC clasa I*. Ca structură este un heterodimer cu două lanțuri, alfa și beta, a câte 210 aminoacizi fiecare. Fiecare lanț are câte trei segmente: transmembrantar, intracitoplasmatic și extracelular. Este un marker definitoriu pentru limfocitele T citotoxice.

În prezent, inteligența artificială ocupă o parte importantă din viața noastră, iar patologia digitală permite analiza automată a imaginilor și constituie o punte interdisciplinară cu impact major în cercetare.

Patologia digitală include achiziția, managementul, distribuirea și interpretarea informațiilor anatomo-patologice, inclusiv secțiunile de pe lame, în mediul digital. Secțiunile digitale sunt create prin scanarea lamelor și astfel se obțin imagini cu rezoluție înaltă care pot fi vizualizate pe computer sau orice monitor, inclusiv device-uri personale cum ar fi telefonul.

Procesul de digitalizare a patologiei s-a datorat dezvoltării și îmbunătățirii mai multor sisteme în ultima decadă, ce conferă o multitudine de date imagistice patologilor sau cercetătorilor.

PARTEA SPECIALĂ

OBIECTIVE

În studiu am realizat următoarele corelații:

1. Corelația între simptomatologie și:

- mediul de proveniență
- paritate
- localizarea endometriozei
- valorile hemoglobinei și hematocritului
- valoarea leucocitelor
- valoarea trombocitelor

2. Corelația între localizarea endometriozei și:

- paritate
- valorile hemoglobinei și hematocritului
- valoarea leucocitelor
- valoarea trombocitelor

3. Corelația între expresia biomarkerilor CD45 și CD8 și:

- localizarea endometriozei
- simptomatologie
- valorile hemoglobinei și hematocritului
- valoarea leucocitelor

MATERIAL ȘI METODĂ

Criterii de eligibilitate

- ❖ Cazurile înregistrate în Clinica de Obstetrică Ginecologie din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență „Sf. Andrei” Constanța care au beneficiat de tratament chirurgical.
- ❖ Cazurile confirmate din punct de vedere histopatologic cu diagnosticul de endometrioză.
- ❖ Cazurile cu examen imunohistochimic alcătuit dintr-un panel obligatoriu de imunomarkeri (CD45, CD8).

Criterii de excludere

- ❖ Cazurile în care diagnosticul histopatologic a fost reprezentat de un alt tip de tumoră malignă sau benignă decât endometrioza.
- ❖ Cazurile cu panel imunohistochimic incomplet.

Prelucrarea materialului histopatologic

Analiza macroscopică a pieselor operatorii proaspăt recoltate a consemnat următoarele caracteristici, în funcție de tipul de intervenție chirurgicală.

Analiza microscopică conform protocolului standard din Serviciul de Anatomie Patologică. În urma examinării microscopice, fiecare caz s-a finalizat cu elaborarea unui raport histopatologic care a inclus atât elemente obligatorii cât și suplimentare, necesare pentru conturarea unui tablou cât mai complet al leziunii tumorale.

Examenul imunohistochimic

Studiul imunohistochimic s-a realizat pe blocurile de parafină din care s-au efectuat secțiunile necesare prelucrării histopatologice clasice cu hematoxină-eozină. Prin secționarea acestora la microtom, la trei nivele, s-au obținut secțiuni seriate cu o grosime de 4μ care au fost aplicate pe lame tratate cu substanță adezivă (polilizină).

Studiul actual constă în evaluarea expresiei imunohistochimice, folosind metoda manuală, a biomarkerilor CD45 și CD8 din focarele de endometrioză și adenomioză pentru a analiza componenta și rolul componentei imune în etiopatogenia acestor leziuni cu caracter distructiv și invaziv pe plan local. Anticorpii utilizați în studiul actual sunt furnizați de firma Biocare. Aceste reacții imunohistochimice s-au finalizat prin vizualizarea antigenelor investigate în brun, la nivelul membranei celulelor țintă. Pentru realizarea controlului calității s-a efectuat fie controlul extern pozitiv și negativ (pe secțiuni normale sau patologice), fie controlul intern pozitiv prin utilizarea probelor din speciimenele chirurgicale de amigdală.

Pentru cuantificarea imunomarkerilor am folosit tehnici nou introduse în România bazate pe patologia digitală. Pentru aceasta am utilizat scanner-ul de lame HURON Tissue Escope 4000XT cu sistem software de captare și stocare a imaginilor rezultate din centrul de cercetare CEDMOG al Universității Ovidius din Constanța. Această metodă permite scanarea completă a preparatelor imunohistochimice și apoi analizarea imaginilor digitale cu ajutorul platformei informatice QuPath pentru cuantificarea automată a indexului CD8 și CD45, utilizând microscopia virtuală.

Am introdus cele 192 de lame preparate imunohistochimic ale pacientelor incluse în studiul prezent în scanner-ul HURON Tissue Escope 4000XT și am obținut imagini de înaltă rezoluție.

Am analizat fiecare secțiune cu ajutorul platformei QuPath, am selectat zonele de interes de pe lamă, analizând între 1 și 5 focare de endometrioză și am calculat aria medie a focarelor analizate. Apoi am cuantificat numărul de celule marcate imunohistochimic CD8, respectiv CD45 atât la nivelul componentei glandulare (intraepiteliale) cât și la nivelul componentei periglandulare (stromale) ale focarelor de endometrioză sau adenomioză. Am calculat procentul celulelor pozitive marcate CD8 și CD45 la nivelul ambelor zone de interes, intraepitelial și stromal.

Datele experimentale au fost prelucrate cu ajutorul programului de prelucrare statistică IBM SPSS Statistics 23. Procedurile utilizate în prima parte a studiului au fost: Statistici descriptive (pentru caracterizarea variabilelor discrete și continue definite la nivelul bazei de date), Grafice, Teste statistice parametrice (Testul One-way ANOVA), Teste statistice neparametrice - adresate variabilelor categoriale (testul χ^2 al asociației, al legăturii dintre două variabile categoriale), Testul χ^2 pentru compararea a două proporții, teste statistice neparametrice pentru date ordinale sau adresate variabilelor numerice atunci când nu este satisfăcută condiția de normalitate (Testul Mann-Whitney U pentru două eșantioane independente, Testul Kruskal-Wallis).

Analiza expresiei biomarkerilor a fost realizată print-o abordare a studiului în care am utilizat teste neparametrice, deoarece în cazul variabilelor analizate, condiția de normalitate nu este îndeplinită ($p < 0,05$, Shapiro-Wilk Test) pentru toate grupurile.

REZULTATE

1. Pacientele din mediul rural au prezentat mai frecvent asocierea simptomatologiei dureroase pelvine cu metroragia.
2. Între tipurile de simptomatologie cu care s-au prezentat pacientele și paritate există o relație de dependență (semnificativă statistic).
3. Nicio pacientă nulipară nu a prezentat metroragie fără asociere cu durere pelvină și nicio pacientă nulipară nu a prezentat durere parieto-abdominală.
4. Pacientele diagnosticate cu adenomioză au avut mai frecvent metroragie sau asocierea metroragiei cu durere pelvină (semnificativ statistic).
5. Toate pacientele cu endometrioză de perete abdominal au avut durere la nivelul peretelui abdominal.
6. Majoritatea pacientelor cu endometrioză pelvină au avut durere pelvină (semnificativ statistic).
7. Analizând tipurile de simptomatologie se constată că există diferențe semnificative statistic în funcție de localizarea endometriozei.
8. Există diferențe semnificative statistic între tipurile de simptomatologie în funcție de valorile medii de vârstă ale pacientelor.
9. Pacientele cu durere pelvină și cele cu durere de perete abdominal au fost mai tinere decât pacientele cu metroragie – ca simptom singular sau în combinație.
10. Există diferențe semnificative statistic între valorile medii de hemoglobină ale pacientelor în funcție de simptomatologie.
11. Pacientele cu metroragie sau asocierea celor două simptome, metroragie și durere pelvină, au prezentat o valoare a hemoglobinei (semnificativ statistic) mai mică decât cele cu durere de perete abdominal sau cele care au prezentat doar durere pelvină.
12. Există diferențe semnificative statistic între valorile medii ale hematocritului în funcție de simptomatologie.
13. Pacientele cu metroragie și asocierea celor două simptome, metroragie și durere pelvină, au prezentat valori ale hematocritului (semnificativ statistic) mai mic decât cele cu durere de perete abdominal sau cele care au prezentat doar durere pelvină.
14. Nu au existat diferențe semnificative statistic între valorile medii ale trombocitelor în funcție de simptomatologie.
15. Nu au existat diferențe semnificative statistic între valorile medii ale leucocitelor în funcție de simptomatologie.
16. Toate pacientele cu endometriom de perete au fost multipare, iar majoritatea pacientelor cu endometrioză pelvină au fost nulipare, pe când cele cu adenomioză au fost, majoritatea, multipare. Pe de altă parte, majoritatea pacientelor nulipare au fost diagnosticate cu endometrioză pelvină, iar dintre pacientele multipare, majoritatea au avut adenomioză. Între localizarea endometriozei și paritate există o relație de dependență semnificativă statistic.
17. Am observat diferențe semnificative statistic, în general, între valorile medii ale hemoglobinei și hematocritului în funcție de localizarea endometriozei. În special, pacientele cu adenomioză au fost mai anemice. Astfel, ele au avut valoarea hemoglobinei mai mică, semnificativ statistic, decât pacientele cu endometrioză pelvină sau de perete abdominal și au avut hematocrit mai mic, semnificativ statistic, decât pacientele cu endometriom de perete abdominal.
18. Nu au existat diferențe semnificative statistic între valorile medii de trombocite sau leucocite în funcție de localizarea endometriozei.

19. Biomarkerul CD45 a fost semnificativ statistic mai intens exprimat intraepitelial în endometriomul de perete comparativ cu celelalte două localizări.

20. Biomarkerul CD45 intraepitelial a fost semnificativ statistic corelat cu simptomatologia. Astfel, CD45 a fost semnificativ statistic mai intens exprimat intraepitelial la pacientele care au prezentat durere de perete abdominal sau asocierea durerii pelvine cu metroragia.

21. Biomarkerul CD45 intraepitelial a avut, la pacientele anemice, o distribuție semnificativ statistic, în general, corelată cu localizarea EM. CD45 a fost semnificativ statistic mai intens exprimat intraepitelial la pacientele anemice cu endometriom de perete decât la pacientele cu adenomioză sau endometrioză pelvină.

22. La pacientele cu valoare normală a hemoglobinei, biomarkerul CD45 intraepitelial a avut, de asemenea, o distribuție semnificativ statistic, în general, corelată cu localizarea EM. CD45 a fost semnificativ statistic mai intens exprimat intraepitelial la pacientele diagnosticate cu endometrioză de perete decât la cele diagnosticate cu endometrioză pelvină.

23. Distribuția valorilor CD45 intraepitelial a fost aceeași la pacientele cu anemie față de pacientele cu valoare normală a hemoglobinei pentru cele trei localizări ale EM.

24. Atât la pacientele cu leucocitoză, cât și la cele cu valori normale ale leucocitelor, exprimarea intraepitelială a biomarkerului CD45 a fost semnificativ statistic corelată, în general, cu localizarea EM. CD45 a fost semnificativ statistic mai intens exprimat intraepitelial la pacientele diagnosticate cu endometrioză de perete decât la pacientele cu adenomioză sau endometrioză pelvină.

25. Distribuția valorilor CD45 intraepitelial a fost aceeași la pacientele cu leucocitoză față de pacientele cu valori normale ale leucocitelor pentru cele trei localizări ale EM.

26. Biomarkerul CD45 a fost (semnificativ statistic) mai intens exprimat stromal în endometrioza de perete comparativ cu celelalte două localizări.

27. Biomarkerul CD45 a fost (semnificativ statistic) mai intens exprimat stromal la pacientele care au prezentat durere de perete abdominal comparativ cu celelalte tipuri de simptomatologie.

28. Biomarkerul CD45 a fost (semnificativ statistic) mai intens exprimat stromal la pacientele anemice cu endometrioză de perete decât la pacientele cu adenomioză sau endometrioză pelvină.

29. La pacientele cu valoare normală a hemoglobinei expresia biomarkerului CD45 stromal a diferit semnificativ statistic în funcție de localizarea endometriozei – mai intens exprimat la nivel parietal față de celelalte două localizări.

30. Biomarkerul CD45 a fost (semnificativ statistic) mai intens exprimat stromal la pacientele cu leucocitoză diagnosticate cu endometrioză de perete decât la pacientele cu adenomioză sau cu endometrioză pelvină.

31. Biomarkerul CD45 a fost mai intens exprimat stromal la pacientele cu valori normale ale leucocitelor diagnosticate cu endometrioză de perete decât la pacientele cu adenomioză sau endometrioză pelvină.

32. Nu au existat diferențe semnificative a expresiei biomarkerului CD8 intraepitelial în funcție de localizarea endometriozei.

33. Nu au existat diferențe semnificative a expresiei biomarkerului CD8 intraepitelial în funcție de simptomatologie.

34. Nu au existat diferențe semnificative a expresiei biomarkerului CD8 intraepitelial în funcție de valoarea hemoglobinei și localizarea endometriozei.

35. Nu au existat diferențe semnificative a expresiei biomarkerului CD8 intraepitelial în funcție de valoarea leucocitelor.

36. Nu au existat, în general, diferențe semnificative în analiza valorilor mediane ale expresiei biomarkerului CD8 stromal în funcție de localizarea endometriozei dar există o distribuție inegală a markerului; astfel, distribuția este semnificativ statistic diferită între adenomioză și peretele abdominal.

37. Nu au existat diferențe semnificative ale expresiei biomarkerului CD8 stromal în funcție de simptomatologie.

38. Nu au existat diferențe semnificative ale valorilor mediane ale expresiei biomarkerului CD8 stromal în funcție de valoarea hemoglobinei și localizarea endometriozei. Pe de altă parte, au existat diferențe semnificative statistic în distribuția acestor valori între pacientele cu adenomioză și endometrioză pelvină.

39. Nu au existat diferențe semnificative ale expresiei biomarkerului CD8 stromal în funcție de valoarea leucocitelor.

CONCLUZII

1. Simptomatologia studiată (durere pelvină/parietală, metroragie sau combinația acestora) a fost semnificativ statistic corelată cu vârsta, mediul de proveniență, paritatea, localizarea endometriozei, valorile hemoglobinei și hematocritului. Nu am identificat asemenea corelații cu valoarea trombocitelor sau leucocitelor.

2. Localizarea endometriozei a fost corelată cu (în afara simptomatologiei, descrisă mai sus) paritatea, valorile hemoglobinei și hematocritului.

3. Biomarkerul CD45 în componenta intraepitelială și stromală a fost mai intens exprimat la pacientele care au avut endometrioză de perete abdominal, în comparație cu cele cu endometrioză pelvină sau adenomioză (indiferent de valoarea hemoglobinei sau a leucocitelor). Expresia biomarkerului a fost semnificativ statistic corelată cu simptomatologia.

4. Expresia biomarkerului CD8 în componenta intraepitelială și stromală nu a prezentat diferențe semnificative, corelate cu simptomatologia sau valoarea leucocitelor. Deși nu au existat diferențe semnificative statistic ale valorilor mediane ale acestei expresii în funcție de localizarea endometriozei sau a valorilor hemoglobinei, distribuția valorilor expresiei respective a fost semnificativ statistic diferită, în funcție de localizarea endometriozei (între adenomioză și peretele abdominal) sau de de valoarea hemoglobinei(între adenomioză și endometrioză pelvină).

5. Inflamația este mult mai intensă la nivelul endometriozei parietale, fapt susținut de prezența crescută a limfocitelor T marcate CD45 la acest nivel.

6. Biomarkerul CD8 (care marchează limfocitele T citotoxice) a fost mai slab exprimat în comparație cu CD45, ceea ce susține caracterul invaziv al endometriozei.