

ადენომიოზის დროს არსებული ეუტოპიური და ექტოპიური ენდომეტრიუმის პროლიფერაციული მახასიათებლები AgNOR-ის ტექნოლოგიის გამოყენებით

ბ. მეტრეველი დ. გაგუა შ.კეპულაძე გ. ბურკაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

ადენომიოზი წარმოადგენს საშვილოსნოს კეთილთვისებიან დაზიანებას, რომელიც ხასიათდება მიომეტრიუმში ენდომეტრიუმის ჯირკვლებისა და სტრომის არსებობით და პათოლოგიური ზრდით. ადენომიოზის დროს მიომეტრიუმში პათოლოგიურად გაზრდილ ენდომეტრიულ ქსოვილს ეწოდება ექტოპიური ენდომეტრიუმი, ხოლო საშვილოსნოს ღრუში არსებულ ენდომეტრიულ ქსოვილს კი ეუტოპიური ენდომეტრიუმი. ადენომიოზის მქონე ქალებში შესაძლებელია აღინიშნებოდეს პათოლოგიური სისხლდენა საშვილოსნოდან, დისმენორეა, დისპარეუნია და უნაყოფობა, თუმცა ქალების ერთ-მესამედში დაზიანება მიმდინარეობს ასიმპტომურად. პერიმენოპაუზურ ქალებში ძლიერი სისხლდენის ან ტკივილის გამო ჩატარებული ჰისტერექტომიის შემდეგ ადენომიოზი ყველაზე ხშირად დიაგნოსტირებულ პათოლოგიას წარმოადგენს. AgNOR გამოიყენება დამხმარე საშუალება უჯრედთა პროლიფერაციული აქტივობის შეფასებისათვის. გარკვეული ტიპის კვლევებით გამოვლენილია მისი ეფექტურობა სხვადასხვა კეთილთვისებიანი თუ ავთვისებიანი პროცესების დიფერენცირებაში ასევე ინტრაეპითური ნეოპლაზიური პროცესების ჰისტოლოგიური ხარისხის დადგენაში. ჩვენი კვლევის ფარგლებში განხორციელდა ფორმალინში ფიქსირებულ და პარაფინში ჩაყალიბებულ საარქივო ბლოკებზე დიაგნოსტირებული ადენომიოზის შემთხვევების დროს სარსებული ეუტოპიური და ექტოპიური ენდომეტრიუმის ასევე მათი სტრომისა და ნორმალური მიომეტრიუმის პროლიფერაციული აქტივობის შეფასება AgNOR-ის ტექნოლოგიის გამოყენებით. შესწავლილ სისტემაში ეუტოპიური ენდომეტრიუმი - ბაზალური ენდომეტრიუმი - ექტოპიური ენდომეტრიუმის როგორც ჯირკვლოვან ასევე სტრომულ კომპონენტში ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული აქტივობა ვლინდება ექტოპიურ ენდომეტრიუმში, რის გამოც სავარაუდოდ იგი შეიძლება წარმოადგენდეს რისკს ნეოპლაზიების განვითარებისათვის.

საკვანძო სიტყვები: ადენომიოზი; AgNOR; ეუტოპიური ენდომეტრიუმი; ექტოპიური ენდომეტრიუმი;

ლიტერატურის მიმოხილვა

ადენომიოზი წარმოადგენს საშვილოსნოს კეთილთვისებიან დაზიანებას, რომელიც ხასიათდება მიომეტრიუმში ენდომეტრიუმის ჯირკვლებისა და სტრომის არსებობით და პათოლოგიური ზრდით. ადენომიოზის დროს მიომეტრიუმში პათოლოგიურად გაზრდილ ენდომეტრიულ ქსოვილს ეწოდება **ექტოპიური ენდომეტრიუმი**, ხოლო საშვილოსნოს ღრუში არსებულ ენდომეტრიულ ქსოვილს კი **ეუტოპიური ენდომეტრიუმი** (1). ადენომიოზის მქონე ქალებში შესაძლებელია აღინიშნებოდეს პათოლოგიური სისხლდენა საშვილოსნოდან, დისმენორეა, დისპარეუნია და უნაყოფობა, თუმცა ქალების ერთ-მესამედში დაზიანება მიმდინარეობს ასიმპტომურად. პერიმენოპაუზურ ქალებში ძლიერი სისხლდენის ან ტკივილის გამო ჩატარებული ჰისტერექტომიის შემდეგ ადენომიოზი ყველაზე ხშირად დიაგნოსტირებულ პათოლოგიას წარმოადგენს (2).

გამოსახულებითი ტექნოლოგიების განვითარების კვალდაკვალ, ადენომიოზი, ბოლო ათწლეულების მანძილზე, უფრო და უფრო ხშირად ვლინდება ახალგაზრდა, რეპროდუქციული ასაკის ქალებში. ულტრაბგერითი კვლევებით მიღებული მონაცემებით ნაჩვენებია ადენომიოზის 20.9%-იანი გამოვლენა ზოგად პოპულაციაში, მაშინ როდესაც მორფოლოგიური გამოკვლევის შედეგების მიხედვით ადენომიოზის პრევალენტობა ცვალებადობს 10-დან 35%-მდე(3).

ადენომიოზი ითვლება ტიპურ დაზიანებად მრავალნაშობიარე ქალებში, თუმცა ბოლოდროინდელი ლიტერატურული მონაცემები უჩვენებს მის ასოციაციას ასევე უნაყოფობასთან (2). ერთ-ერთი კვლევის მონაცემების მიხედვით, რომელიც ჩატარებული იყო უნაყოფო ქალებში ადენომიოზის პრევალენტობა შეადგენდა 24,4%-ს სულ მცირე 40 წლის ასაკში და 22%-ს 40 წელზე ნაკლები ასაკის ქალებში(4). სადღეისოდ უნაყოფობა ითვლება ადენომიოზისერთ-ერთ შესაძლო კლინიკურ გამოვლინებად.

ადენომიოზის განვითარებაში მონაწილე პათოგენეზური მექანიზმები ბოლომდე ცნობილი არაა, თუმცა ბოლო დეკადის განმავლობაში დაგროვილი კვლევების მონაცემების მიხედვით, სასქესო სტეროიდული ჰორმონები, ანთებითი მოლეკულები, ექსტრაცელულური მატრიქსის ენზიმები, ზრდის ფაქტორები და ნეიროანგიოგენური ფაქტორები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ადენომიოზის განვითარებაში(3). ადენომიოზის პათოგენეზის ასახსნელად მოწოდებულია რამდენიმე თეორია. ყველაზე გავრცელებული თეორიის თანახმად ადენომიოზის ვითარდება ენდომეტრიუმის ბაზალური შრის ინვაგინაციის შედეგად მიომეტრიუმში შეცვლილი ან **დარღვეული შემაერთებელი ზონის გამო**(5). როგორც კვლევებიდან ჩანს, ეუტოპიურ ენდომეტრიუმში მიმდინარე მოლეკულური ცვლილებები ხელს უწყობს ექტოპიური ენდომეტრიული იმპლანტების მიომეტრიუმში მიგრაციასა და განსახლებას. ექტოპიური ენდომეტრიუმის მიგრაციასა და იმპლანტაციას შესაძლოა ხელი შეუწყოს ეუტოპიურ ენდომეტრიუმში სხვადასხვა გენების და სასიგნალო გზების ფუნქციონირების დარღვევამ.

ეუტოპიური ენდომეტრიული ქსოვილის გლობალური ტრანსკრიპტომული ანალიზით ნაჩვენებია 140 გენის გააქტიურება და 884 გენის რეგულაციის მოშლა ადენომიოზის მქონე ქალებში(6). ეს გენებია აპოპტოზში მონაწილე, სტეროიდულ ჰორმონებზე მოპასუხე, ექსტრაცელულური მატრიქსის რემოდელირებაში მონაწილე და ასევე უცნობი მნიშვნელობის მიკრო-რნმ-ები. ამ შეცვლილმა სასიგნალო გზებმა შესაძლებელია განაპირობონ ენდომეტრიუმის იმპლანტების განვითარება, მიგრაცია და გადარჩენა მიომეტრიუმში. თუმცა, აუცილებელია დამატებითი კვლევების ჩატარებამ შეცვლილი სასიგნალო გზების ბიოლოგიური მნიშვნელობის გამოსავლენად. შემდეგი თეორიის თანახმად, ადენომიოზის განვითარებაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს **ქსოვილის დაზიანებისა და რეპარაციის მექანიზმები**, რომლებიც წარმოადგენენ მიომეტრიული ინვაზიის ძირითად მექანიზმს მიომეტრიუმის ქრონიკულმა პერისტალტიკურმა შეკუმშვებმა შესაძლებელია ხელი შეუწყოს მიკროტრამვების განვითარებას შემაერთებელ ზონაში, რაც იწვევს ანთების განვითარებას და ესტროგენის ლოკალურ პროდუქციას. არსებობს ადენომიოზის **ალტერნატიული პათოგენეზური თეორია**, რომლის მიხედვითაც დაზიანება ვითარდება de novo მიომეტრიუმის ემბრიონული ან მოზრდილთა ღეროვანი უჯრედების მეტაპლაზიის შედეგად. ადენომიოზის ეპითელურ-მეზენქიმური ტრანზიციის თეორიის მიხედვით, ესტროგენის ჭარბი პროდუქციის პირობებში ვითარდება ეპითელურ-მეზენქიმური ტრანზიციის მახასიათებლები, რაც წარმოადგენს კრიტიკულ ეტაპს ენდომეტრიული უჯრედების მიერ ინვაზიური მახასიათებლების შექმნისათვის ადენომიოზის პროგრესიის დროს.

ენდომეტრიუმში არის უაღრესად დინამიური და რეგენერაციული ქსოვილი, რომლის ზრდა და ასევე რეგრესი ყოველი მენსტრუალური ციკლის დროს მკვეთრად იმართება ჰორმონული ზეგავლენის შედეგად. ამ ქსოვილის რეგენერაციული პოტენციალი ასევე სავარაუდოდ მონაწილეობს ენდომეტრიუმის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი დაავადებების პათოგენეზში, როგორცაა ენდომეტრიოზი, ადენომიოზი და ენდომეტრიუმის კიბო. ენდომეტრიოტული სტრომა წააგავს ეუტოპიურ პროლიფერაციულ ენდომეტრიუმის სტრომას და ხშირად შეიცავს წვრილი სისხლძარღვების ქსელს. შეიძლება განიცადოს გლუვი კუნთებად მეტაპლაზია, ფიბროზი, დეციდუალიზაცია ორსულობის დროს ან პროგესტაციური მკურნალობის დროს ასევე შეიძლება იყოს მიქსოიდური (განსაკუთრებით ორსულობის დროს). იშვიათ შემთხვევებში, ენდომეტრიოზი შეიძლება არ გამოვლინდეს ჯირკვლოვანი კომპონენტით. ასეთ შემთხვევებში სტრომა გვევლინება, როგორც ერთადერთი იდენტიფიცირებადი კომპონენტი (სტრომალური ენდომეტრიოზი). ქრონიკული სისხლდენის მტკიცებულება (ჰემოსიდერინით დატვირთული ანქაფიანი მაკროფაგები) შეიძლება გამოსადეგი იყოს დიაგნოსტიკისათვის.

აქამდე შემოთავაზებულმა მრავალმა **ადენომიოზის სხვადასხვა ჰისტოლოგიურმა კლასიფიკაციამ** არ აჩვენა გარკვეული მგრძობელობა დაავადების ზუსტი სიმძიმისა და სიმპტომების შესაფასებლად, რაც შემდგომში გაამარტივებდა კლინიკურ მენეჯმენტსა თუ დაავადების პროგრესიის პროგნოზის განსაზღვრას(4)(7). მიზეზი ასევე მრავალასპექტიანია, ესერთი მხრივ შესაძლოა იყოს მორფოლოგთა შორის დაავადების შეფასების

არაობიექტურიკრიტერიუმების არარსებობა (ე.წ. interobserver variability) უმეტესწილად რუტინული ჰისტოლოგიური ანალიზი ფოკუსირებულია ადენომიოზის არსებობაზე ან არარსებობაზე(8).

შემოთავაზებულია სხვადასხვა მეთოდი ჯირკვლის ინფილტრაციის სიღრმის შესაფასებლად, ზოგიკლევის მიერ მოწოდებულია სიღრმის აბსოლუტური გაზომვა, ზოგი კი პროცენტით მოწოდება(9). გარდა ამისა, ადენომიოზის ჰისტოლოგიური დიაგნოზი შეიძლება დამოკიდებული იყოს ქსოვილის სინჯის აღების ხარისხზე და ენდომეტრიუმ-მიომეტრიუმის შეკავშირების არარეგულარულობაზე. ამ პრობლემების შესამსუბუქებლად რეკომენდებულია ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზის ჩატარება მხოლოდ კარგად ორიენტირებულ ჰისტერექტომიის ნიმუშებზე და თავიდან იქნას აცილებული დიაგნოსტიკა კიურეტაჟიდან ან ჰისტეროსკოპიული მასალისგან(7,10).

ადენომიოზის ბოლოდროინდელი კვლევების თანახმად მოწოდებულია მტკიცებულება რომელიც ითვალისწინებს იმას, რომ როგორც ენდომეტრიოზი ასევე ადენომიოზი სათავეს იღებს ნორმალური ეუტოპიური ენდომეტრიუმიდან გენეტიკური ცვლილებები, რომლებიც მოიცავს გენებს, როგორცაა KRAS, PIK3CA, PPP2R1A და ARIDIA, გამოვლინდა ეუტოპიურ ენდომეტრიუმში და ასევე ენდომეტრიოზისა და ადენომიოზის დაზიანებებში. ასევე ნაჩვენებია, რომ აღწერილი ყველა მორეციდივე მუტაცია გვხვდება მხოლოდ ეპითელურ კომპონენტში და არა სტრომაში. გარდა ამისა, ეპითელური უჯრედების ანალიზმა აჩვენა განმეორებადი KRAS მუტაციები როგორც ადენომიოზში, ასევე ეუტოპიურ ბაზალურ ენდომეტრიულ ჯირკვლებში. ამ შედეგების საფუძველზე შესაძლოა ვივარაუდოთ რომ ადენომიოზი სათავეს იღებს ბაზალური ენდომეტრიუმის ჯირკვლებიდან რომელიც შეიცავს KRAS მუტაციას. ადენომიოზის მქონე პაციენტებში, რომლებსაც აღენიშნებათ თანმხლები ენდომეტრიოზული დაზიანება, კვლევები ავლენს იდენტურ KRAS მუტაციებს ეუტოპიური ენდომეტრიუმის, მიმდებარე ადენომიოზისა და თანმხლები ენდომეტრიოზის ეპითელურ უჯრედებში, რაც ვარაუდობს, რომ ადენომიოზი და ენდომეტრიოზი არის ოლიგოკლონური დაზიანებები, რომლებიც წარმოიქმნება ენდომეტრიული უჯრედების სპეციფიკური მუტაციით(11).

ადენომიოზურ დაზიანებაში გარკვეული კვლევებით აღწერილია მუტაციების კიბოსთან უფრო მეტად ასოცირებული გენების მაღალი მუტანტური ალელის სიხშირე (MAF) ნორმალურ ენდომეტრიუმის ეპითელიუმთან შედარებით.

დადგენილია, რომ არსებობს ძლიერი კორელაცია პროლიფერაციულ აქტივობასა და სიმსივნის ცუდ პროგნოზს შორის, ამიტომ კლინიკური კვლევებით ინტერესი პროლიფერაციული პოტენციალი სხვადასხვა მარკერებზე ჯერ კიდევ აქტუალურია და ყოველწიურად იზრდება. მოწოდებულია პროლიფერაციის შეფასების სხვადასხვა საშუალებები როგორცაა თიმიდინის მარკირების/მონიშვნის ინდექსი (thymidin labeling index), გამდინარე ციტომეტრი (flow cytometry) იმუნოჰისტოქიმიური ანტისხეული Ki-67 ასევე AgNOR შეღებვა და პროლიფერაციული უჯრედის გამოვლენა(12,13).

სიმსივნის ბიოლოგიური ქცევისა და პროგნოზის დადგენა მეტად რთული პროცესია და მოითხოვს სხვადასხვა ტექნოლოგიების, დახვეწილი და სპეციალიზებული ინსტრუმენტებისა თუ ტექნიკის გამოყენებით რაც ასევე დიაგნოსტიკურად არახარჯეფექტურია.

AgNOR-ის შედეგის ტექნონომიური, სწრაფი, და მარტივი შესასრულებელი. ის შეიძლება შესრულდეს პარაფინში ჩაყალიბებულ ანათლებზე. ნაკლოვანებები მოიცავს შრომატევადი და დამღლელი წერტილების დათვლის მეთოდს, რომელიც ხშირად ასოცირდება დამკვირვებლებს შორის განსხვავებულ შედეგებთან, არასტანდარტიზებული შეფასების კრიტერიუმების არარსებობის გამო. გარკვეული ტიპის კვლევებით გამოვლენილია მისი ეფექტურობა, როგორც დამხმარე საშუალება საშვილოსნოს ყელის ბრტყელ ეპითელიუმის დისპლაზიების დიფერენცირებაში ასევე სხვადასხვა ორგანოთა სისტემის კეთილთვისებიანი თუ ავთვისებიანი პროცესების დიფერენცირებაში(14-18).

AgNOR/The Nucleolar Organiser Regions იშიფრება, როგორც ბირთვული მარგანიზაციული რეგიონები და არის დნმ-ის მარყუჟები, რომლებიც პროეცირდება მიტოზის ინტერფაზური ბირთვების ბირთვაკებში. AgNORs არის ქრომოსომული სეგმენტები, რომლებიც აკოდირებენ რიბოსომურ რიბონუკლეინის მჟავას, განლაგებულია ხუთ აკროცენტრულ ქრომოსომაზე რიცხოვნობით 13,14,15,21 და 22. ეს ნუკლეოლარული რეგიონები ასოცირდება მჟავე არაჰისტონის პროტეინებთან, რომლებიც არგინოფილურია. ბირთვული ორგანიზატორული რეგიონები (AgNORs) განლაგებულია უჯრედის ბირთვში. AgNOR ტექნიკით იღებება ცილები შერჩევითად ვერცხლის კოლოიდური ტექნიკით. AgNOR ლაქა შეიძლება ვიზუალურად იყოს შავი წერტილის სახით ოპტიკური მიკროსკოპის ქვეშ. AgNOR-ის გაზრდილი რაოდენობა დაკავშირებულია უჯრედების გაზრდილ პროლიფერაციასთან(19).

ადენომიოზი არის კეთილთვისებიანი გინეკოლოგიური დაავადება, რომელიც გავლენას ახდენს რეპროდუქციული ასაკის ბევრ ქალზე, იწვევს მენჯის ტკივილსა და უნაყოფობას. მიუხედავად ბოლოდროინდელი კვლევების შედეგად დაგროვილი ინფორმაციისა ადენომიოზში ჩართული პათოგენეზური მექანიზმები ჯერ კიდევ შესწავლის პროცესშია. საჭიროა სტანდარტიზებული კლასიფიკაციის სისტემის შემუშავება, რათა თავიდან იქნას აცილებული როგორც ზედმეტად ასევე არასაკმარისი დიაგნოსტიკა რაც გაუმჯობესებს ადენომიოზის დიაგნოსტიკას, პროგნოზის განსაზღვარასა და კლინიკურ მენეჯმენტს, რაც საბოლოო ჯამში პაციენტთა ცხოვრების ხარისხის გაუმჯობესებას ემსახურება.

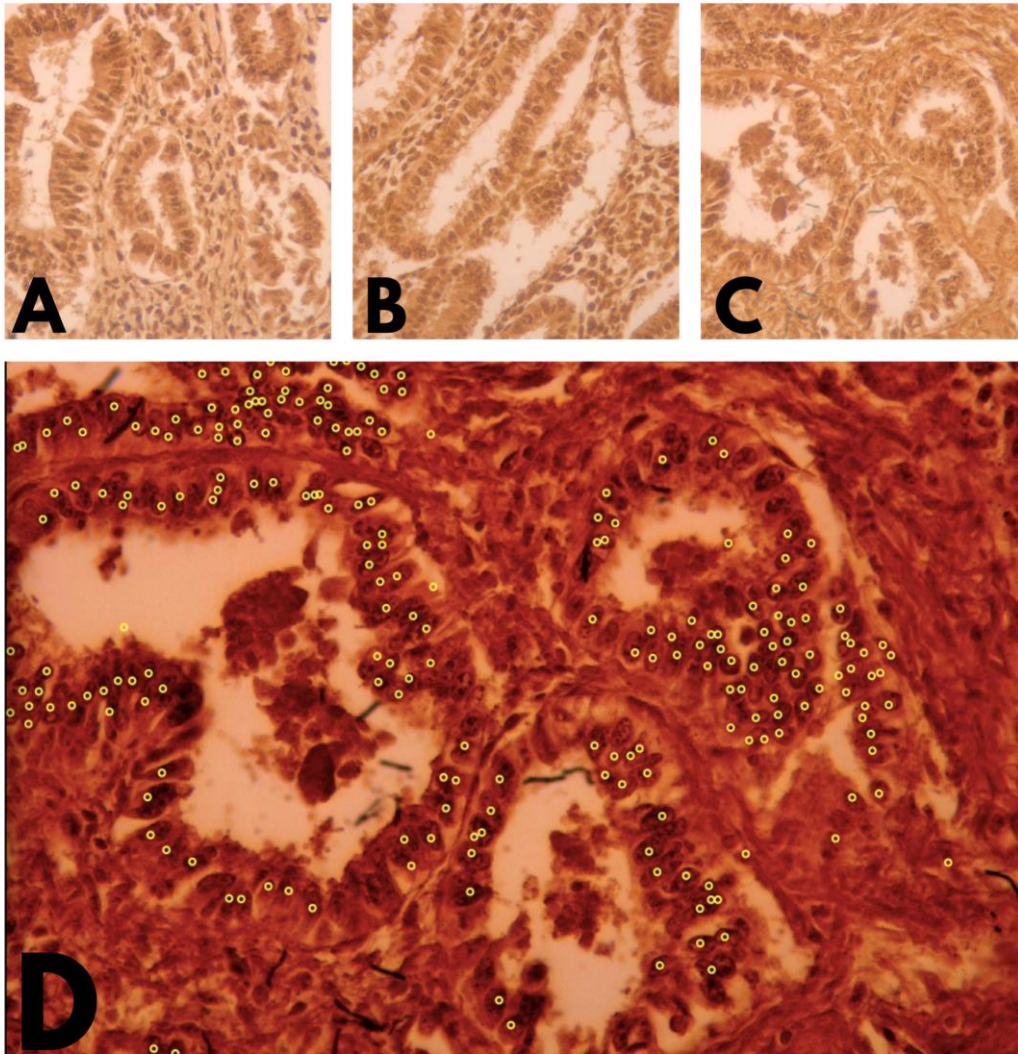
მასალა და მეთოდები

ჩვენი კვლევის ფარგლებში განხორციელებულ იქნა კოჰორტული რეტროგრადული კვლევა, რისთვისაც გამოყენებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სასწავლო-სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის 2019-2022 წლების საარქივო მასალა. კვლევა მოიცავდა ჯამში 30 პოსტოპერაციულ შემთხვევას. ჰისტერექტომიის შემდგომ მიღებული მასალა დამუშავებული იქნა შესაბამისი გაიდლაინის მიხედვით და გამოკვლეული

იქნა საშვილოსნოს ტანის მთლიანი სისქის ანათლები ადენომიოზის სიღრმის მაქსიმალურად ზუსტი იდენტიფიცირებისათვის. პაციენტები შერჩეული იყო რანდომიზებულად მათი ასაკი მერყეობდა 55-75 ფარგლებში (საშუალო ასაკი 62წელი). H&E და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის შედეგების ინტერპერაცია განხორციელდა ორი დამოუკიდებელი პათოლოგ-ანატომის მიერ (თ.მ; გ.ბ). ანათლები დამატებით შეიღება AgNOR-ის ტექნოლოგიით (შესაბამისი პროტოკოლის მიხედვით) .

1. ანათლები დაიჭრა 4 მიკრონის სისქეზე;
2. დეპარაფინიზაცია, ჰიდრატაცია დეიონიზებულ წყალში.
3. ერთი მოცულობა 2% ქელატინის ხსნარი და ორი მოცულობა ვერცხლის ნიტრატის ხსნარის ნარევის მოთავსდა სლაიდზე და დაიფარა მთლიანად;
4. სლაიდები ინკუბატორში 370c ტემპერატურაზე დაყოვნდა 15 წუთის განმავლობაში.
5. ვერცხლის კოლოიდი ჩამოირეცხა დეიონირებული წყლით.
6. ანათლები დეჰიდრატირდა ქსილოლით და დაფიქსირდა ბიომაუნთის ხსნარით;

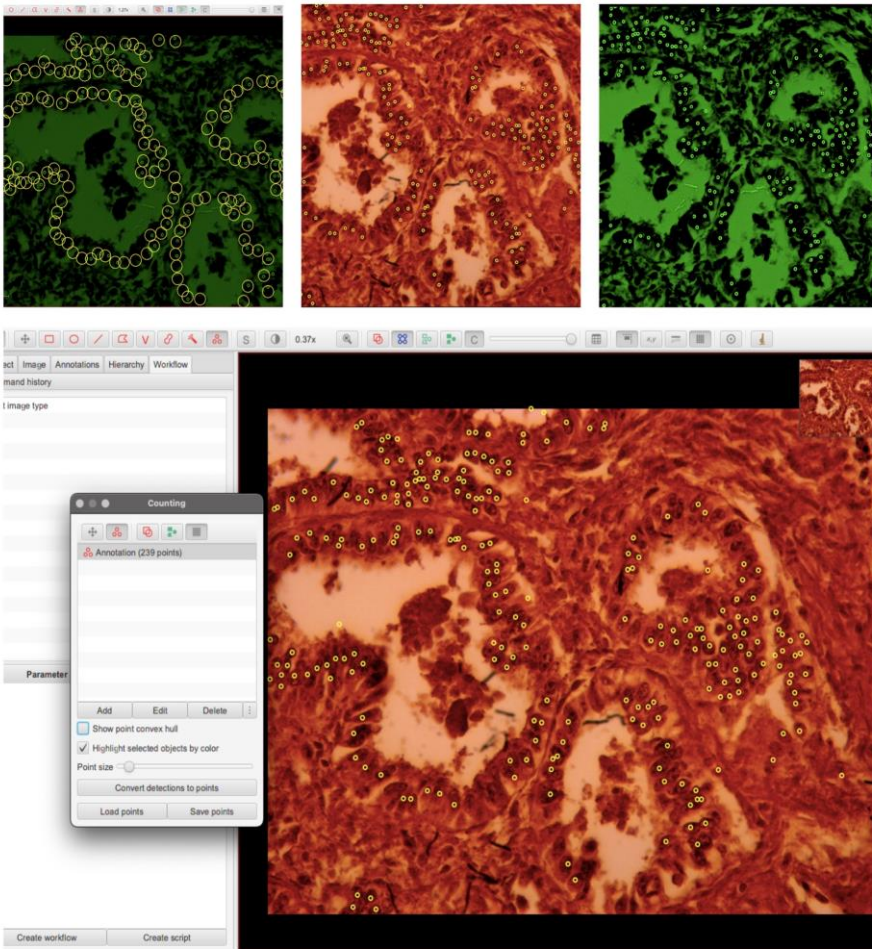
ექსპრესია შეფასდა ციფრული პათოლოგიის პროგრამით QuPath-ის მეშვეობით (ვერსია 0.4.0): თითოეული შემთხვევიდან აღებული იქნა მაღალი მხედველობის ველის HPF სურათი (უპირატესად 200X და 400X) და ჩართულ იქნა პროგრამაში შემდგომი დამუშავებისათვის.



სურათი N1: A. ეუტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომა შეღებილი AGRO-R-ის მეთოდით 400X; B. ბაზალური ენდომეტრიუმის სტრომა შეღებილი AGRO-R-ის მეთოდით 400X; C. ექტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომა შეღებილი AGRO-R-ის მეთოდით 400X; D. ექტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომა შეღებილი AGRO-R-ის მეთოდით 400X; Qupath ციფრული ანალიზის პროგრამის სურათი იდენტიფიცირებული აგნორის მიერ მონიშნული წერტილები;

ყველა ანათალში გამოკვლეული იქნა 100 უჯრედი და დათვლილი იყო AgNOR წერტილების ჯამური რაოდენობა. AgNOR-ის ციფტად განისაღვრა 100 უჯრედის საშუალო წერტილების რაოდენობა (ჯამური რიცხვი გაყოფილი 100ზე მაგ. 100 უჯრედში ნანახი იქნა 350 წერტილი; AgNOR რიცხვად მიჩნეული იქნა $350/100=3.5$)

გამოვლინდა წერტილების გადანაწილების სამი ტიპი: **ტიპი I** - აღინიშნებოდა ცალკეულ უჯრედში, ცენტრალურად ლოკალიზებული დიდი ზომის წერტილი; **ტიპი II** - აღინიშნებოდა დიდი ზომის წერტილის მიმდებარედ მცირე ზომის მეორე წერტილი; **ტიპი III** - აღინიშნებოდა ორზე მეტი, უპირატესად მცირე ზომის წერტილები თითოეულ უჯრედში.



სურათი N2. ციფრული ანალიზის პროგრამა Qupath:AgNOR-ის წერტილების კალკულაცია;

პროლიფერაციული აქტივობა AgNOR-ის ტექნოლოგიით არსებულ 30 შეთხვევაში შეფასდა შემდეგ ჰისტოლოგიურ ერთეულში:

- ეუტოპიური ენდომეტრიუმის ჯირკვლოვანი კომპონენტი;
- ეუტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომული კომპონენტი;
- ბაზალური ენდომეტრიუმის ჯირკვლოვანი კომპონენტი (ბაზალურ ენდომეტრიუმად განისაზღვრა ენდომ-მიომეტრიუმი შეკავშირებიდან 5 მმ-ზე ნაკლები მანძილით დაშორებული ენდომეტრიუმი);
- ბაზალური ენდომეტრიუმის სტრომული კომპონენტი;
- ექტოპიური ენდომეტრიუმის ჯირკვლოვანი კომპონენტი;
- ექტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომული კომპონენტი;
- ნორმალური მიომეტრიუმი;

ცხრილი N1: კვლევის საერთო შედეგები, AgNOR-ის რიცხვის მიითითებით;

მიღებული რაოდენობრივი მონაცემები დამუშავდა შესაბამისი სტატისტიკური მეთოდების გამოყენებით: კორელაცია განისაზღვრა Spearman rank test-ის მიხედვით ხოლო შედარებითი ანალიზისთვის ჯგუფებს შორის გამოყენებული იქნა Mann-Whitney და Kruskal-Wallis ტესტი. მგრძნობელობა და სპეციფიურობა შეფასდა 95%-იანი სარწმუნოების ინტერვალით. P რიცხვი <0.05 განხილულ იქნა

ნომერი	ასაკი	ეუტოპიური ენდომეტრიუმი	ეუტოპიური -სტრომა	ბაზალური ენდომეტრიუმი	ბაზალური -სტრომა	ექტოპიური ენდომეტრიუმი	ექტოპიური სტრომა	მიომეტრიუმი
1	55	2.2	1.7	2.5	2.7	5.5	2.5	0.8
2	60	1.5	0.8	2.8	1.9	4.3	2.6	1.2
3	58	1.5	0.8	2.6	2.5	4.1	2.8	1.8
4	55	1.2	1.7	3.1	1.9	3.5	2.7	1.2
5	59	2	1.5	2.7	2.6	4.2	2.8	1.3
6	65	1.7	0.8	2.6	2.2	3.8	2.9	1.3
7	75	2.2	1.4	2.5	2.5	5.5	3	0.8
8	70	1.5	1.7	2.8	2.6	3.6	3	1.8
9	73	1.4	1.4	3.1	2	4.2	3.1	1.4
10	57	1.9	0.9	3	2.5	3.5	2.5	0.8
11	55	2.2	1.7	2.5	2	5.5	2.7	1.1
12	72	1.7	1.5	2.6	2.7	4.8	3.1	1.4
13	70	1.7	1.4	3.5	2.5	3.5	2.7	0.8
14	57	2	1.4	3.1	2.8	3.7	2.5	1.1
15	58	2.2	1.7	2.5	2.5	5.1	2.9	1.5
16	69	1.9	1.5	2.6	2.7	4.7	3.1	0.8
17	67	2	1.2	2.5	2.2	5	2.6	1.1
18	60	1.9	1.7	3.5	2.8	5.4	2.8	0.9
19	57	1.9	1.5	2.7	2.2	3.5	3.1	0.9
20	60	2.2	1.2	2.5	2.3	4.7	2.5	1.5
21	58	2.1	1.5	3.1	2.1	5.4	3	1
22	63	1.2	1.5	2.7	2.8	5.1	2.8	1.5
23	57	1.3	1.2	2.5	2.2	3.6	3.1	0.9
24	74	2.2	0.7	3.5	2.3	5.4	2.5	1.7
25	56	1.6	1.5	3.1	1.9	3.9	1.8	1
26	58	1.3	1.2	2.5	2.8	4.5	2.6	0.9
27	70	1.2	1.7	3.1	1.9	5.2	3.2	1.5
28	58	1.5	1.2	3.1	1.9	5.1	2.6	0.9
29	57	2.2	1	2.6	2.4	5.2	2.6	1.6
30	75	1.5	0.7	3.5	2.8	3.9	2.7	0.9

სტატისტიკურად სარწმუნოდ. ყველა სტატისტიკური დამუშავება განხორციელდა SPSS statistical software V20.0-ის საშუალებით.

კვლევის შედეგები

გამოკვლეულ ეუტოპიური ენდომეტრიუმის ჯირკვლოვანი კომპონენტში AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი მერყეობდა 120-220ის ინტერვალში, საშუალო მაჩვენებელს შეადგენდა 1.7 ხოლო სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი დაფიქსირდა 0.35 (იხილეთ ცხრილი N2).

	ეუტოპიური ენდომეტრიუმი	ეუტოპიური - სტრომა	ბაზალური ენდომეტრიუმი	ბაზალური - სტრომა	ექტოპიური ენდომეტრიუმი	ექტოპიური სტრომა	მიომეტრიუმი
AGNOR აბსოლუტური რიცხვის განაწილება	120-220	70-170	250-350	190-280	350-550	180-320	80-180
AGNOR რიცხვი - საშუალო	1.7	1.32	2.84	2.37	4.51	2.76	1.18
სტანდარტული გადახრა	0.35	0.33	0.34	0.32	0.73	0.28	0.32

ცხრილი N2: AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი; საშუალო მაჩვენებელი და სტანდარტული გადახრა;

გამოკვლევულ ეუტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომული კომპონენტში AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი მერყეობდა 70-170ის ინტერვალში, საშუალო მაჩვენებელს შეადგენდა 1.32 ხოლო სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი დაფიქსირდა 0.33.

გამოკვლევულ ბაზალური ენდომეტრიუმის ჯირკვლოვანი კომპონენტი AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი მერყეობდა 250-350 ის ინტერვალში, საშუალო მაჩვენებელს შეადგენდა 2.84 ხოლო სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი დაფიქსირდა 0.34.

გამოკვლევულ ბაზალური ენდომეტრიუმის სტრომული კომპონენტი AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი მერყეობდა 190-280ის ინტერვალში, საშუალო მაჩვენებელს შეადგენდა 2.37 ხოლო სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი დაფიქსირდა 0.32.

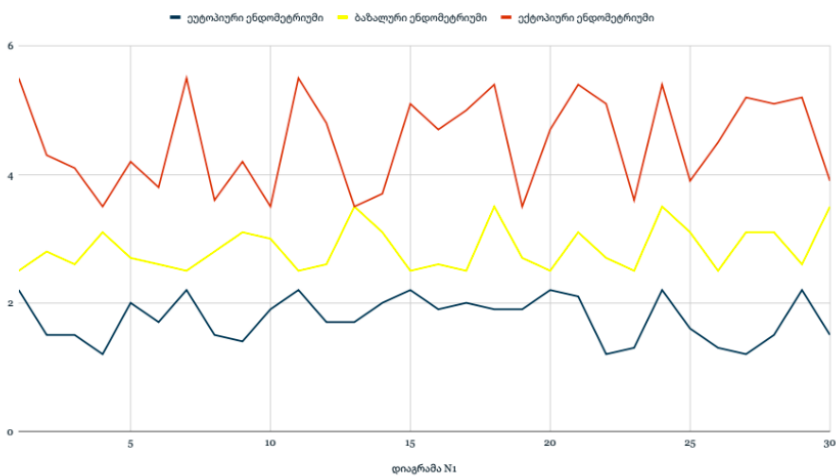
გამოკვლევულ ექტოპიური ენდომეტრიუმის ჯირკვლოვანი კომპონენტი AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი მერყეობდა 350-550 ის ინტერვალში, საშუალო მაჩვენებელს შეადგენდა 4.51 ხოლო სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი დაფიქსირდა 0.73.

გამოკვლევულ ექტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომული კომპონენტი AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი მერყეობდა 180-320 ის ინტერვალში, საშუალო მაჩვენებელს შეადგენდა 2.76 ხოლო სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი დაფიქსირდა 0.28.

გამოკვლევულ მიომეტრიუმის ნიმუშებში AgNOR-ის აბსოლუტური რიცხვი მერყეობდა 80-180ის ინტერვალში, საშუალო მაჩვენებელს შეადგენდა 1.18 ხოლო სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი დაფიქსირდა 0.32.

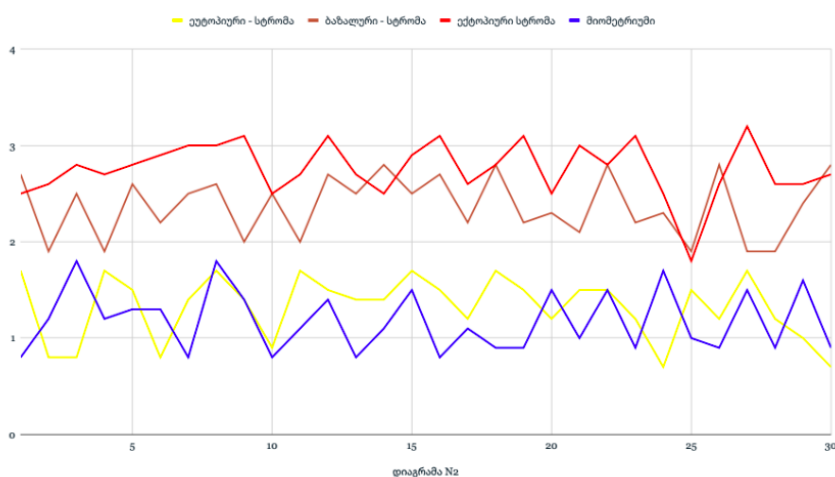
შედეგების ანალიზი

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ მაქსიმალური პროლიფერაციული აქტივობა AGNORის შედეგის მეთოდის მიხედვით აღინიშნა ექტოპიურ ენდომეტრიუმში (4.51), რაც ეუტოპიურ ენდომეტრიუმს(1.7) 2.6ჯერ ხოლო ბაზალურ ენდომეტრიუმს(2.84) 1.5ჯერ აღემატება.



დიაგრამა N1: ეუტოპიური ენდომეტრიუმის, ბაზალური ენდომეტრიუმისა და ექტოპიური ენდომეტრიუმის შედარება;

მაქსიმალური პროლიფერაციული აქტივობა აღინიშნა ექტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომულ კომპონენტში (2.76) რაც მიომეტრიუმის მაჩვენებელს (1.18) 2.33ჯერ, ეუტოპიური სტრომის მაჩვენებელს (1.32) 2.09ჯერ ბაზალური სტრომის მაჩვენებელს (2.37) 1,16 ჯერ აღემატება;



დიაგრამა N2: ეუტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომის ბაზალური ენდომეტრიუმის სტრომის, ექტოპიური ენდომეტრიუმის სტრომისა და მიომეტრიუმთან შედარება;

დასკვნები

შესწავლილ სისტემაში ეუტოპიური ენდომეტრიუმი - ბაზალური ენდომეტრიუმი - ექტოპიური ენდომეტრიუმის როგორც ჯირკვლოვან ასევე სტრომულ კომპონენტში ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული აქტივობა ვლინდება ექტოპიურ ენდომეტრიუმში, რის გამოც სავარაუდოდ იგი შეიძლება წარმოადგენდეს რისკს ნეოპლაზიების განვითარებისათვის.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Antero MF, Ayhan A, Segars J, Shih IM. Pathology and Pathogenesis of Adenomyosis. Semin Reprod Med. 2020 May 1;38(2-3):108-18.
2. Devlieger R, D'Hooghe T, Timmerman D. Uterine adenomyosis in the infertility clinic. Hum Reprod Update. 2003 Mar;9(2):139-47.
3. Yamaguchi M, Yoshihara K, Suda K, Nakaoka H, Yachida N, Ueda H, et al. Three-dimensional understanding of the morphological complexity of the human uterine endometrium. iScience. 2021 Apr 23;24(4).
4. Chapron C, Marcellin L, Borghese B, Santulli P. Rethinking mechanisms, diagnosis and management of endometriosis. Nat Rev Endocrinol. 2019 Nov 1;15(11):666-82.
5. García-Solares J, Donnez J, Donnez O, Dolmans MM. Pathogenesis of uterine adenomyosis: invagination or metaplasia? Fertil Steril. 2018 Mar 1;109(3):371-9.

6. Camboni A, Marbaix E. Ectopic endometrium: The pathologist's perspective. *Int J Mol Sci*. 2021 Oct 1;22(20).
7. Munro MG. Classification and Reporting Systems for Adenomyosis. *J Minim Invasive Gynecol*. 2020 Feb 1;27(2):296–308.
8. Habiba M, Gordts S, Bazot M, Brosens I, Benagiano G. Exploring the challenges for a new classification of adenomyosis. *Reprod Biomed Online*. 2020 Apr 1;40(4):569–81.
9. Goldblum JR, Clement PB, Hart WR. Adenomyosis with sparse glands: A potential mimic of low-grade endometrial stromal sarcoma. *Am J Clin Pathol*. 1995;103(2):218–23.
10. Hirschowitz L, Mayall FG, Ganesan R, McCluggage WG. Intravascular adenomyomatosis expanding the morphologic spectrum of intravascular leiomyomatosis. *American Journal of Surgical Pathology*. 2013 Sep;37(9):1395–400.
11. Uduwela AS, Perera MAK, Aiqing L, Fraser IS. Endometrial-myometrial interface: Relationship to adenomyosis and changes in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*. 2000 Jun;55(6):390–400.
12. KY Chiu SLKW. Improved silver technique for showing nucleolar organiser regions in paraffin wax sections. *J Clin Pathol*. 1989;42:992–4.
13. Boquist L. Nucleolar organizer regions in normal, hyperplastic and neoplastic parathyroid glands. *Virchows Archiv [A] Pathol Anat*. 1990;417:237–41.
14. Caldeira PC, Aguiar MCF, Mesquita RA, do Carmo MAV. Oral leukoplakias with different degrees of dysplasia: Comparative study of hMLH1, p53, and AgNOR. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 2011 Apr;40(4):305–11.
15. Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Pigeon F, Adnet JJ. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J*. 1986 Jan;18(1):5–14.
16. Li Q, Hacker GW, Danscher G, Sonnleitner-Wittauer U, Grimelius L. Argyrophilic nucleolar organizer regions - A revised version of the Ag-NOR-staining technique. *Histochem Cell Biol* [Internet]. 1995 Aug [cited 2023 Jan 22];104(2):145–50. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01451573>
17. Ferreira SJ, Machado MÂN, de Lima AAS, Johann ACBR, Grégio AMT, Azevedo-Alanis LR. Identification of AgNORs and cytopathological changes in oral lichen planus lesions. *Acta Histochem*. 2017 Jan 1;119(1):32–8.

18. Harsh A, Tondon R, Harsh HK, Professor E. Utility of AgNOR Count in Non-Neoplastic and Neoplastic Lesions of the Uterine Cervix. Original Research Article [Internet]. 2018 [cited 2022 Dec 30];198(1):198–201. Available from: www.ijmrp.com

19. Rüschoff J, Plate K, Bittinger A, Thomas C. Nucleolar Organizer Regions (NORs): Basic Concepts and Practical Application in Tumor Pathology. *Pathol Res Pract*. 1989;185(6):878–85.

Proliferative characteristics of eutopic and ectopic endometrium in adenomyosis using AgNOR technology

B. Metreveli D. Gagua Sh.Kepuladze G. Burkadze

Tbilisi State Medical University

Abstract

Adenomyosis is a benign lesion of the uterus, which is characterized by the presence and pathological growth of endometrial glands and stroma in the myometrium. During adenomyosis, endometrial tissue abnormally grown in the myometrium is called ectopic endometrium, and endometrial tissue in the uterine cavity is called eutopic endometrium. Women with adenomyosis may experience abnormal uterine bleeding, dysmenorrhea, dyspareunia, and infertility, although, in one-third of women, the lesion is asymptomatic. Adenomyosis is the most frequently diagnosed pathology after hysterectomy in perimenopausal women due to heavy bleeding or pain. AgNOR is used as an aid for evaluating the proliferative activity of cells. Certain types of studies have demonstrated their effectiveness in differentiating various benign or malignant processes, as well as in determining the histological grade of intraepithelial neoplastic processes. Within the framework of this study, the proliferative activity of the eutopic and ectopic endometrium, as well as their stroma and normal myometrium, was evaluated on archival blocks fixed in formalin and embedded in paraffin (FFPE), diagnosed in cases of adenomyosis, using AgNOR technology. In the studied system, eutopic endometrium - basal endometrium - in both the glandular and stromal components of ectopic endometrium, the highest proliferative activity is manifested in ectopic endometrium, which is why it can probably represent a risk for the development of neoplasms.

Key words: adenomyosis; AgNOR; eutopic endometrium; ectopic endometrium;