

## ბარეტის საყლაპავის სიმსივნისწინარე და სიმსივნური პროცესების პროლიფერაციული აქტივობის შეფასება AGNOR-ის ტექნოლოგიის გამოყენებით

პაატა მეშველიანი<sup>1</sup>, გაია დიდავა<sup>2</sup>, გაია თომაძე<sup>3</sup>, შოთა კეპულაძე<sup>4</sup>, გიორგი ბურკაძე<sup>5</sup>

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის Phd სტუდენტი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიური ანატომიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი; <sup>3</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი, ზოგადი ქირურგი; <sup>4</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის Phd სტუდენტი; ექიმი პათოლოგანატომი; <sup>5</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი, მოლეულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი;

### აბსტრაქტი

საყლაპავის კარცინომა წარმოადგენს სიხშირით მერვე ავთვისებიან დაავადებას და სიმსივნესთან ასოცირებული სიკვდილიანობის მეექვსე მიზეზს მსოფლიო მასშტაბით. აწმ-ს მონაცემებით საყლაპავის კარცინომების უმეტესობას შეადგენს ადენოკარცინომები. საყლაპავის ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომების ინციდენტობა ყოველწლიურად მცირდება, ხოლო ადენოკარცინომების რაოდენობა კი ბოლო სამი-ოთხი დეკადის განმავლობაში არ შეცვლილა. დადგენილია, რომ არსებობს ძლიერი კორელაცია პროლიფერაციულ აქტივობასა და სიმსივნის ცუდ პროგნოზს შორის, ამიტომ კლინიკური კვლევებით ინტერესი პროლიფერაციული პოტენციალი სსხვადასხვა მარკერებზე ჯერ კიდევ აქტუალურია და ყოველწლიურად იზრდება. 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. განისაზღვრა პროლიფერაციული აქტივობა AgNOR-ის ტექნოლოგიით არსებულ 35 შეთხვევაში შეფასდა შემდეგ ჰისტოლოგიურ ერთეულში: ბარეტის საყლაპავი ენტერული მეტაპლაზიით; ბარეტის საყლაპავი ფოვოლური მეტაპლაზიით; ბარეტის საყლაპავი ეპითელიუმის დაბალი ხარისხის დისპლაზიით; ბარეტის საყლაპავი ეპითელიუმის მაღალი ხარისხის დისპლაზიით; ჩვენი კვლევის შედეგებზე დაყრდნობით AgNOR-ის ტექნოლოგია შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ბარეტის საყლაპავის დროს პროლიფერაციული აქტივობის შესაფასებლად.

საკვანძო სიტყვები: ბარეტის საყლაპავი; AgNOR; დისპლაზია; მეტაპლაზია;

## ლიტერატურის მიმოხილვა

საყლაპავის კარცინომა წარმოადგენს სიხშირით მერვე ავთვისებიან დაავადებას და სიმსივნესთან ასოცირებული სიკვდილიანობის სიხშირით მეექვსე მიზეზს მსოფლიო მასშტაბით. აწმ-ს მონაცემებით საყლაპავის კარცინომების უმეტესობას შეადგენს ადენოკარცინომები<sup>1</sup>. საყლაპავის ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომების ინციდენტობა ყოველწლიურად მცირდება, ხოლო ადენოკარცინომების რაოდენობა კი ბოლო სამი-ოთხი დეკადის განმავლობაში არ შეცვლილა. ამას გარდა აღსანიშნავია, მსოფლიოს კიბოს რეგისტრის ოფიციალური მონაცემებით, საყლაპავის ადენოკარცინომების ინციდენტობა აწმ-ში შეადგენს 2,8-ს ყოველ 100 000 მოსახლეზე, ხოლო საქართველოს მონაცემებით 0,93-ს<sup>2</sup>. თუმცა, შესაძლებელია ოფიციალური სტატისტიკა ზუსტად არ ასახავდეს აღნიშნული დაზიანებების გავრცელებას, რადგან საყლაპავის ადენოკარცინომების უმეტესობა ჰისტოპათოლოგიურად არ განირჩევა კუჭის ადენოკარცინომებისგან და მათი ზუსტი დიაგნოსტიკა გართულებულია. ოფიციალურ სტატისტიკურ მონაცემებზე დაყრდნობით ასევე შესაძლებელია ვივარაუდოთ, რომ აღნიშნული პრობლემა უფრო მეტადაა გამოხატული განვითარებად ქვეყნებში, მათ შორის საქართველოშიც, განვითარებულ ქვეყნებთან შედარებით.

ბარეტის საყლაპავის ფართოდ გავრცელებული პათოგენეზური თეორიაა საყლაპავის ეპითელიუმის დაზიანება ქრონიკული გასტროეზოფაგური რეფლუქსით, თუმცა, ის თუ როგორ ხდება ბრტყელუჯრედოვანი ეპითელიუმის ცილინდრული ეპითელიუმით ჩანაცვლება ბოლომდე ცნობილი არაა. არსებობს ბარეტის საყლაპავის განვითარების პოტენციური მექანიზმები, როგორებიცაა ტრანსდიფერენციაციაცია და ტრანსკომიტმენტი<sup>3</sup>.

ტრანსკომიტმენტი წარმოადგენს პროცესს, რომლის დროსაც ხდება მოუმწიფებელი პროგენიტორი უჯრედები პროლიფერაცია და დიფერენციაცია სხვადასხვა უჯრედის ტიპებად. ამ დროს ხდება პროგენიტორი უჯრედების რეპროგრამირება და მათი ნორმალური დიფერენციაციის პროცესი შეცვლილია. ტრანსკომიტმენტი ემსგავსება ტრანსდიფერენციაციის მოგვიანებით ეტაპებს პალიგენეზის პროცესით. თუმცა ტრანსდიფერენციაციისგან განსხვავებით ტრანსკომიტმენტი იწყება მოუმწიფებელი პროგენიტორი უჯრედებისგან, რომლებიც განიცდიან პათოლოგიურ დიფერენციაციას, სავარაუდოდ პათოლოგიურად შეცვლილი გარემოს გამო, როგორიცაა მაგალითად გასტროეზოფაგური რეფლუქსი. ცნობილი არ არის თუ რომელი პროგენიტორი უჯრედებიდან ხდება ბარეტის ეზოფაგუსის განვითარება, მაგრამ არსებობს ოთხი კატეგორიის უჯრედი, როგორც შესაძლო კანდიდატები. ესენია საყლაპავში მდებარე პროგენიტორი უჯრედები, კერძოდ ბრტყელუჯრედოვანი ეპითელიუმის ბაზალური უჯრედები ან საყლაპავის სუბმუკოზური ჯირკვლების და მათი სადინრების უჯრედები; კუჭის პროქსიმალური ნაწილის (კარდის) უჯრედები, რომლებიც მიგრირებენ საყლაპავში, რათა მოახდინონ რეფლუქსით დაზიანებული ბრტყელუჯრედოვანი ეპითელიუმის რეპარაცია; ურჯედების სპეციალიზებული პოპულაცია ეზოფაგო-გასტრულ შეერთებაში, რომლებიც ასევე მიგრირებენ საყლაპავში რათა მოახდინონ რეფლუქსით დაზიანებული ბრტყელუჯრედოვანი ეპითელიუმის ჩანაცვლება და ძვლის ტვინის პროგენიტორი უჯრედები რომელთა ტრანსპორტიც ხდება სისხლის საშუალებით საყლაპავში,

რათა მათ მიერ მოხდეს რეფლუქსით დაზიანებული ბრტყელი ეპითელიუმის უჯრედების ჩანაცვლება. რადგან ნაწლავის ტიპის უჯრედები, რომლებიც დამახასიათებელია ბარეტის მეტაპლაზიისათვის ჩვეულებრივ არ ვლინდება საყლაპავში, კუჭში ან ძვლის ტვინში, ამიტომ საჭიროა რეპროგრამირება ნებისმიერი ამ კანდიდატი უჯრედიდან ბარეტის მეტაპლაზიის განვითარებისათვის. ფიქრობენ, რომ გასტროეზოფაგური რეფლუქსი წარმოადგენს ძირითად ფაქტორს, რომელიც საჭიროა ამ პროგენიტორი უჯრედების ტრანსკომიტენტისათვის. მნიშვნელოვანია აღნიშნოთ, რომ შესაძლებელია ტრანსკომიტენტის პროცესში მონაწილეობდეს აღნიშნული უჯრედების ერთ ტიპზე მეტი, როგორც ბარეტის ეზოფაგუსის პროგენიტორი უჯრედი. უფრო მეტიც, ნებისმიერმა ამ პროგენიტორმა უჯრედმა შესაძლოა დასაბამი მისცეს ბარეტის ეზოფაგუსის რეციდივის განვითარებას დაზიანების ენდოსკოპიური ერადიკაციიდან თვეების და წლების შემდეგაც კი<sup>4,5</sup>.

ფიქრობენ, რომ საყლაპავის ადენოკარცინომების უმეტესობა ვითარდება ბარეტის ეზოფაგიტთან ასოცირებული დისპლაზიისგან. ლიტერატურაში არსებული მონაცემების მიხედვით, ბარეტის ეზოფაგიტთან ასოცირებული ადენოკარცინომის ინციდენტობა ცვალებადია და დამოკიდებულია კვლევის მახასიათებლებზე. მაგალითად, ფართომასშტაბიან კვლევებში აღწერილია სიმსივნის განვითარების უფრო დაბალი რისკი, შედარებით მცირემასშტაბიან კვლევებთან. კვლევები, რომლებიც ჩატარებულია უფრო მეტად მამაკაცებზე აჩვენებს სიმსივნური დაავადების მნიშვნელოვნად მაღალ ინციდენტობას, რადგან ბარეტის ეზოფაგუსის დისპლაზიად და შემდგომ ავთვისებიან სიმსივნედ პროგრესიის მაჩვენებელი ორჯერ უფრო მაღალია მამაკაცებში, ქალებთან შედარებით. Yousef და კოლეგების მიერ გამოქვეყნებული იქნა სისტემური მიმოხილვა და 47 კვლევის მეტა ანალიზი, რომლის მიხედვითაც სიმსივნის საშუალო ინციდენტობა ბარეტის ეზოფაგუსის დროს შეადგენდა 6.1-ს ყოველ 1000 კაცზე წელიწადში (0.6% წელიწადში). თუმცა ამ კვლევამ ასევე აჩვენა მნიშვნელოვანი სხვაობა სხვადასხვა კვლევებს შორის. იგივე ავტორების მიერ გამოვლენილი იქნა შედარებითი დაბალი ინციდენტობა იმ კვლევებში, რომლებშიც გამორიცხული იყო ადრეული კიბოს შემთხვევები (29 კვლევა 47-დან) და საბოლოო ინციდენტობა შეადგენდა 5.3-ს 1000 კაცზე წელიწადში (0.5% წელიწადში), მაგრამ ასევე აქაც აღინიშნებოდა მნიშვნელოვანი ჰეტეროგენულობა კვლევებს შორის. მსგავსი შედეგები იქნა ნანახი Sikkema და კოლეგების კვლევაში, რომელთაც ჩაატარეს სისტემური მიმოხილვა და მეტა ანალიზი 50 კვლევაზე, რომელიც საერთო ჯამში მოიცავდა 14 109 პაციენტს<sup>6</sup>. მათ მიერ აღწერილი იყო კარცინომის ინციდენტობა 6.3 1000 კაცზე წელიწადში, ასევე მნიშვნელოვანი ჰეტეროგენულობით კვლევებს შორის. როდესაც კვლევაში მოხდა მხოლოდ იმ შემთხვევების გათვალისწინება სადაც ბარეტის ეზოფაგუსის მხოლოდ კარგად განსაზღვრული კრიტერიუმები იყო დასახლებული ინციდენტობა შემცირდა 5.0-ზე 1000 კაცზე წელიწადში. Alcedo და კოლეგების მიერ ასევე აღწერილი იქნა მსგავსი ინციდენტობა, 4.8 1000 კაცზე წელიწადში (0.5% წელიწადში)<sup>3,7-9</sup>.

მაღალი ხარისხის დისპლაზიის მქონე პაციენტების იმყოფებიან კარცინომის განვითარების უფრო მაღალი რისკის ქვეშ. ზოგიერთ კვლევებში, ეს რისკი შეფასებულია როგორც 60%-დან 90%-მდე. ერთ-ერთი მეტა ანალიზის შედეგებით საყლაპავის ადენოკარცინომის

განვითარების მაჩვენებელი მაღალი დისპლაზიის მქონე პაციენტებში ცვალებადობდა 55.7-დან 1000 კაცზე წელიწადში (5.6% წელიწადში) 65.8-მდე 1000 კაცზე წელიწადში (6.6% წელიწადში)<sup>9</sup>.

დაბალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევაში ადენოკარცინომის განვითარების რისკი შედარებით დაბალია, თუმცა ამ დროს აღინიშნება სტატისტიკურად სარწმუნო პროგრესიის რისკი მაღალი ხარისხის დისპლაზიად ან კარცინომად, რომელიც შეადგენს 20%-დან 28%-მდე 5 წელიწადში<sup>10</sup>.

ზემოთ აღნიშნული ლიტერატურული მონაცემები მიუთითებს, რომ ცალკეული პაციენტები ხასიათდებიან ბარეტის ეზოფაგიტის დისპლაზიად და შემდგომში კარცინომად პროგრესიის განსხვავებული რისკით. შესაბამისად კლინიკურ პრაქტიკაში მაღალი მნიშვნელობა ენიჭება ინდივიდუალურ პაციენტში არსებული დაზიანების პროგრესიის რისკის სწორ შეფასებას, რაც თავის მხრივ გააადვილებს მკურნალობისა და კლინიკური მენეჯმენტის სწორი მეთოდების შემუშავებას.

ამჟამად Ki67 წარმოადგენს უჯრედის პროლიფერაციის ყველაზე კარგად შესწავლილ მარკერს. Ki67-ის მომატებული ექსპრესია აღინიშნება სხვადასხვა ტიპის კარცინომებში, საყლაპავის კარცინომის ჩათვლით. სხვადასხვა კვლევებით ნაჩვენებია განსხვავება Ki67-ის განაწილებაში დაბალი ხარისხის დისპლაზიასა და მაღალი ხარისხის დისპლაზიას შორის. შესწავლილი იქნა კოლეგების მიერ გამოკვლეული იქნა Ki67-ის მონიშვნის ინდექსი 25 ეზოფაგექტომიურ მასალაში ბარეტის ეზოფაგიტის სხვადასხვა უბნებში. ბარეტის ეზოფაგიტის უბნებში დისპლაზიის გარეშე Ki67-ზე საშუალო პოზიტიურობა შეადგენდა 45%-ს, დაბალი ხარისხის დისპლაზიის უბნებში Ki67-ის საშუალო პოზიტიურობა შეადგენდა 46%-ს, ხოლო მაღალი ხარისხის დისპლაზიის უბნებში Ki67-ზე საშუალო პოზიტიურობა აღწევდა 55%-ს. მიუხედავად მცირე განსხვავებებისა აღინიშნებოდა სტატისტიკურად სარწმუნო ხაზობრივი კორელაცია დაზიანების პროგრესიასა და Ki67-ის მონიშვნის ინდექსს შორის. მოპროლიფერაციე უბნის ზომა ასევე მნიშვნელოვნად იყო გაზრდილი დაზიანების პროგრესიის კვალდაკვალ. Lauwers და კოლეგების კვლევაში, რომელშიც შესწავლილი იყო Ki67-ის ექსპრესია 20 ეზოფაგექტომიურ მასალაში აღწერილი იქნა Ki67-ზე საშუალო პოზიტიურობა 10% დისპლაზიის არმქონე ბარეტის ეზოფაგიტის უბნებში, 20% დაბალი ხარისხის დისპლაზიის უბნებში და 50% მაღალი ხარისხის დისპლაზიის უბნებში<sup>11</sup>. Hong და კოლეგების მიერ ასევე შესწავლილი იყო Ki67-ის მონიშვნის ინდექსი ბარეტის ეზოფაგიტის მქონე პაციენტებში და კუჭის ლორწოვანში (როგორც საკონტროლო ქსოვილი). კუჭის ლორწოვანში Ki67 მონიშვნის საშუალო ინდექსი აღწევდა 13%-ს. ბარეტის ეზოფაგიტის უბნებში დისპლაზიის გარეშე 33%-ს, 40%-ს დაბალი ხარისხის დისპლაზიაში და 33%-ს მაღალი ხარისხის დისპლაზიაში. ეს კვლევა მოიცავდა საყლაპავის ადენოკარცინომის მხოლოდ ხუთ შემთხვევას, რომლებშიც Ki67-ის მონიშვნის საშუალო ინდექსი აღწევდა 38%-ს<sup>7,8,12</sup>.

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<sup>13,14</sup>.

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 შეღებვის ტექნიკა ეკონომიური, სწრაფი, და მარტივი შესასრულებელია. ის შეიძლება შესრულდეს პარაფინში ჩაყალიბებულ ანათლებზე. ნაკლოვანებები მოიცავს შრომატევადი და დამლელი წერტილების დათვლის მეთოდს, რომელიც ხშირად ასოცირდება დამკვირვებლებს შორის განსხვავებულ შედეგებთან, არასტანდარტიზებული შეფასების კრიტერიუმების არარსებობის გამო. გარკვეული ტიპის კვლევებით გამოვლენილია მისი ეფექტურობა, როგორც დამხმარე საშუალება საშვილონოს ყელის ბრტყელ ეპითელიუმის დისპლაზიების დიფერენცირებაში ასევე სხვადასხვა ორგანოთა სისტემის კეთილთვისებიანი თუ ავთვისებიანი პროცესების დიფერენცირებაში<sup>14,15</sup>.

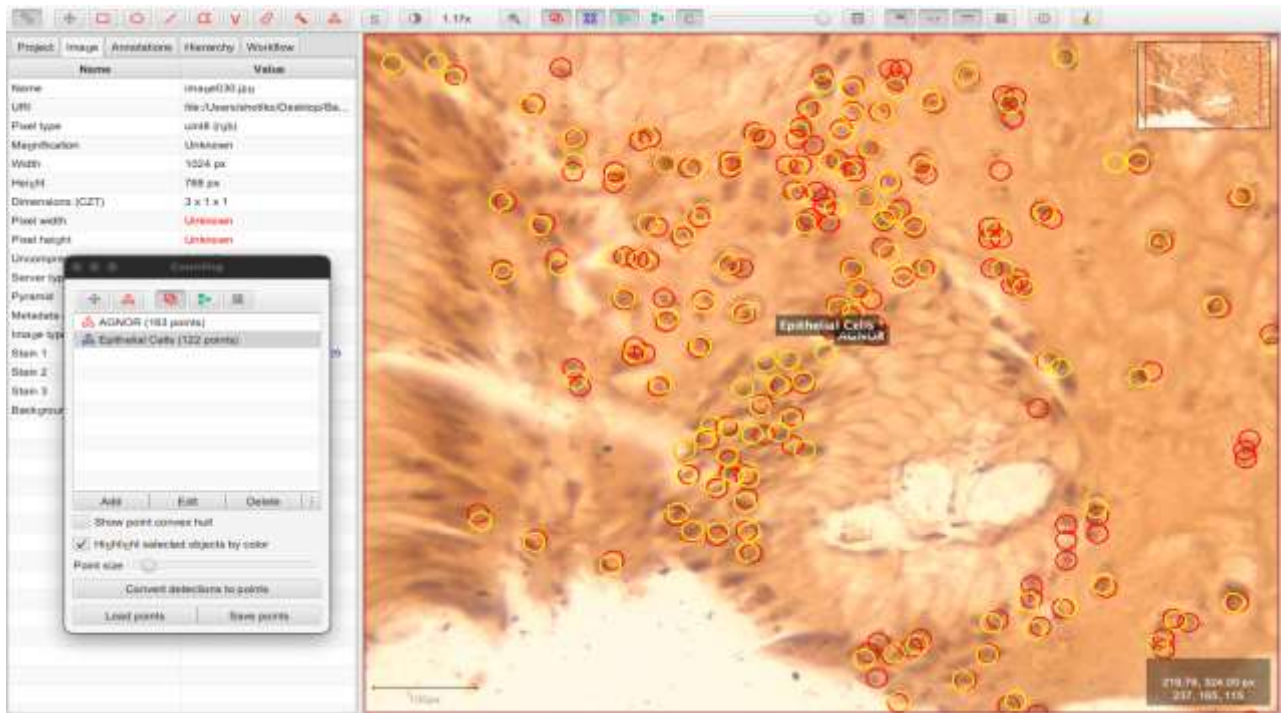
**AgNOR/The Nucleolar Organiser Regions** იშიფრება, როგორც ბირთვული მარგანიზაციული რეგიონები და არის დნმ-ის მარყუჯები, რომლებიც პროცირდება მიტოზის ინტერფაზური ბირთვების ბირთვაკებში. AgNORs არის ქრომოსომული სეგმენტები, რომლებიც აკოდირებენ რიბოსომურ რიბონუკლეინის მჟავას, განლაგებულია ხუთ აკროცენტრულ ქრომოსომაზე რიცხობრივად 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<sup>16,17</sup>.

### მასალა და მეთოდები

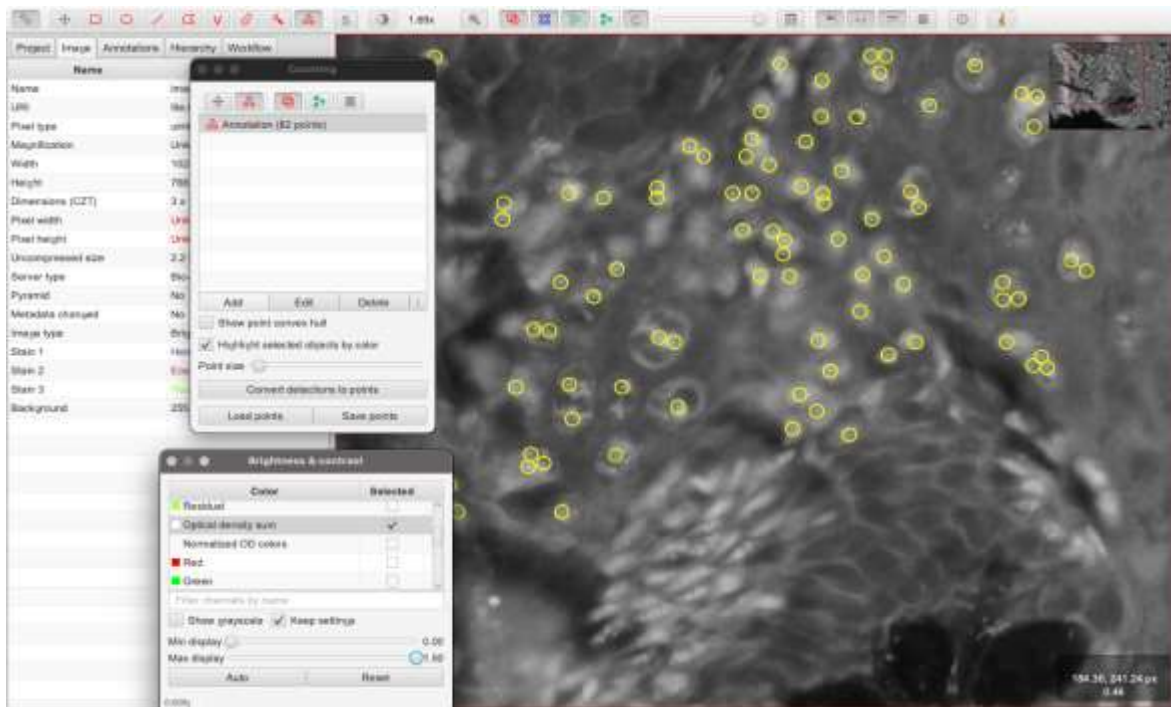
ჩვენი კვლევის ფარგლებში განხორციელებულ იქნა კოჰორტული რეტროგრადული კვლევა, რისთვისაც გამოყენებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სასწავლო-სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის 2019-2022 წლების საარქივო მასალა. კვლევა მოიცავდა ჯამში 35 შემთხვევას. H&E და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის შედეგების ინტერპრაცია განხორციელდა ორი დამოუკიდებელი პათოლოგ-ანატომის მიერ (შ.კ; 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% ჟელატინის 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. ანათლდები დეჰიდრატირდა ქსილოლით და დაფიქსირდა ბიომაუნთის ხსნარით;

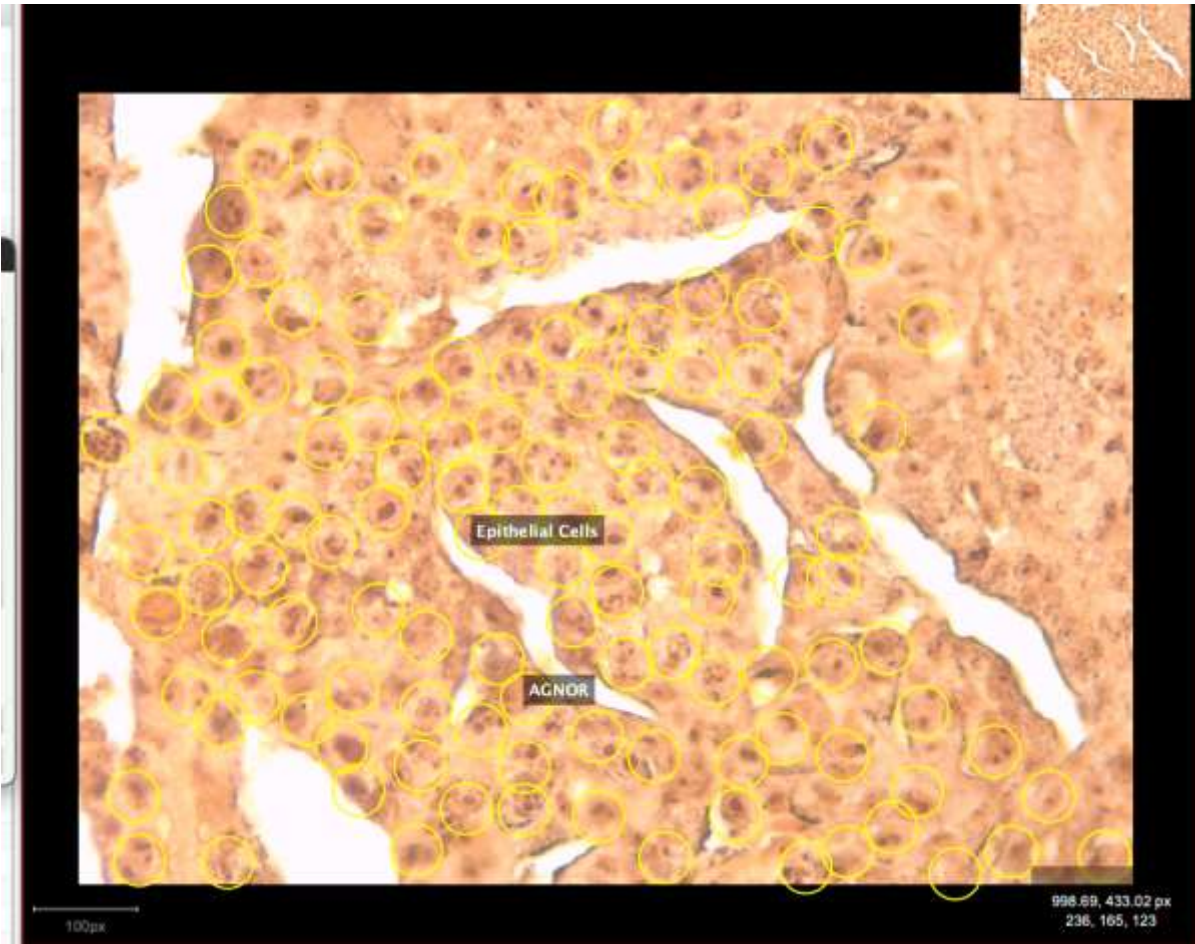


სურათი 1: ნაჩვენებია ეპითელური უჯრედებისა და AgNOR-ის წერტილების დათვლის პროცესი



სურათი2 : ნაჩვენებია AgNOR-ის ტექნოლოგიით შეღებილ ანათლებში წერტილების გამოვლენისა და დათვლის პროცესი;

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.



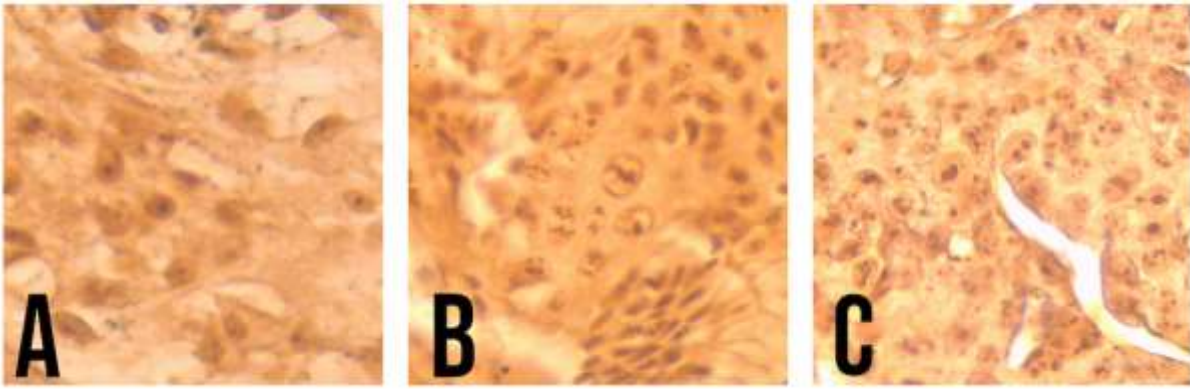
**სურათი 3:** აღნიშნულია ეპითელურ უჯრედებში AgNOR-ის წერტილების განაწილება;

ყველა ანათალში გამოკვლეული იქნა 100 უჯრედი და დათვლილი იყო AgNOR წერტილების ჯამური რაოდენობა. AgNOR-ის ციფრად 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.

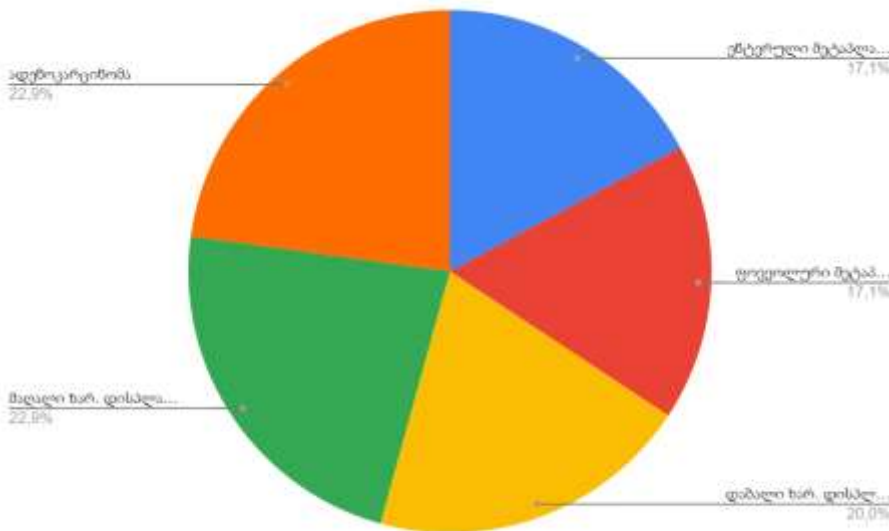




სურათი 3: წერტილების განაწილების სამი ტიპი: A. ტიპი I; B. ტიპი II; C. ტიპი III.

პროლიფერაციული აქტივობა AgNOR-ის ტექნოლოგიით არსებულ 35 შეთხვევაში შეფასდა შემდეგ ჰისტოლოგიურ ერთეულში:

- ❖ ბარეტის საცლაპავი ენტერული მეტაპლაზიით;
- ❖ ბარეტის საცლაპავი ფოვოლური მეტაპლაზიით;
- ❖ ბარეტის საცლაპავი ეპითელიუმის დაბალი ხარისხის დისპლაზიით;
- ❖ ბარეტის საცლაპავი ეპითელიუმის მაღალი ხარისხის დისპლაზიით;



დიაგრამა 1: შემთხვევათა პროცენტული განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

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

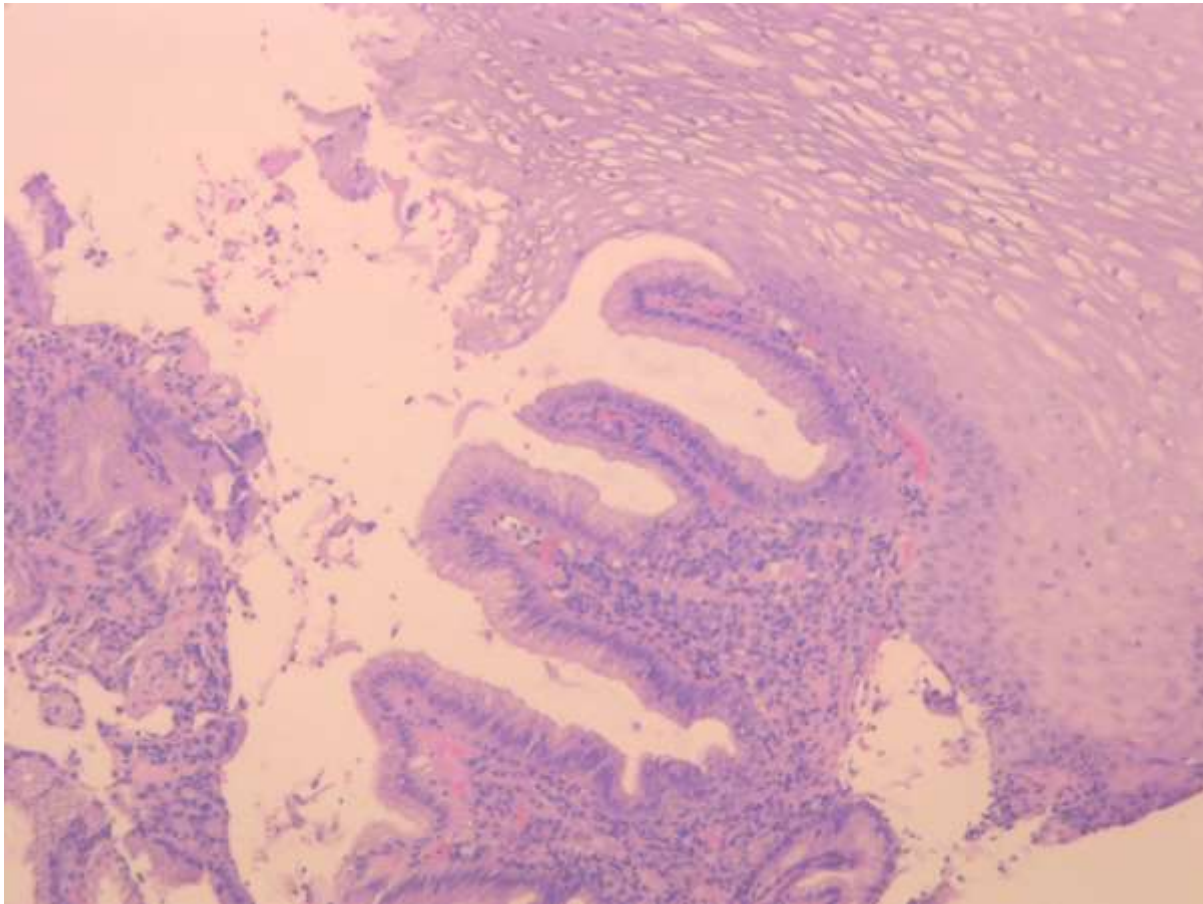


## კვლევის შედეგები

კვლევის შედეგად გამოვლინდა შემდეგი მონაცემები, შესაბამის ჯგუფებში:

ენტერული მეტაპლაზიის შემთხვევებში (n=6) AgNOR-ის რიცხვის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა 101.8 ხოლო AgNOR მაჩვენებელი გამოვლინდა 1.01.

ფოვოლური მეტაპლაზიის შემთხვევებში (n=6) AgNOR-ის რიცხვის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა 104.5 ხოლო AgNOR მაჩვენებელი გამოვლინდა 1.04.



**სურათი 4** ბარეტის საყლაპავის დროს მეტაპლაზირებული ლორწოვანის ნიმუშები H&E ტექნოლოგია 200x;

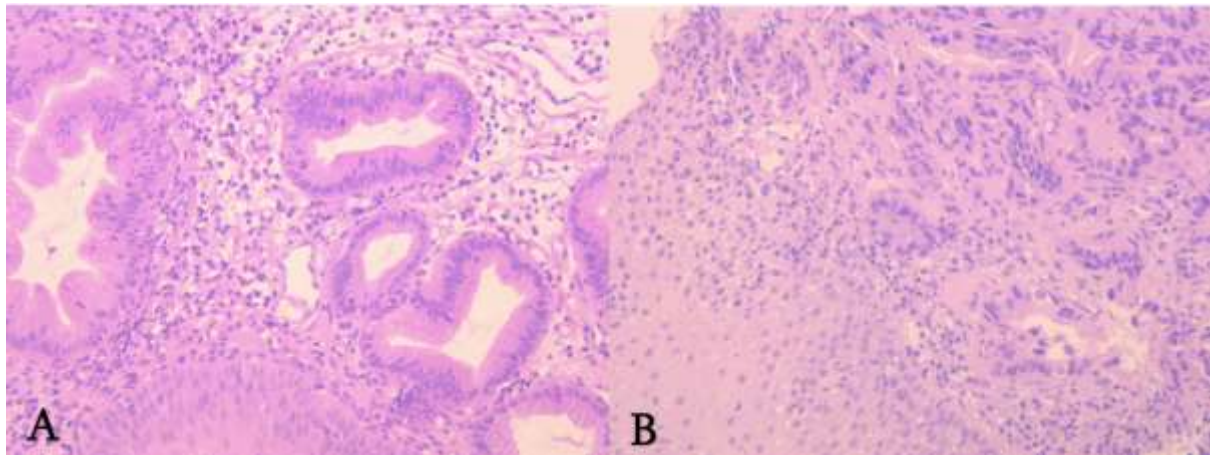
დაბალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევებში (n=7) AgNOR-ის რიცხვის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა 179.1 ხოლო AgNOR მაჩვენებელი გამოვლინდა 1.79.

მაღალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევებში (n=8) AgNOR-ის რიცხვის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა 224.3 ხოლო AgNOR მაჩვენებელი გამოვლინდა 2.24.

ადენოკარცინომის შემთხვევებში (n=8) AgNOR-ის რიცხვის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა 229.12 ხოლო AgNOR მაჩვენებელი გამოვლინდა 2.29.

**ცხრილი 1:** კვლევის შედეგები AgNOR-ის რიცხვი და AgNOR-ის მაჩვენებელი;

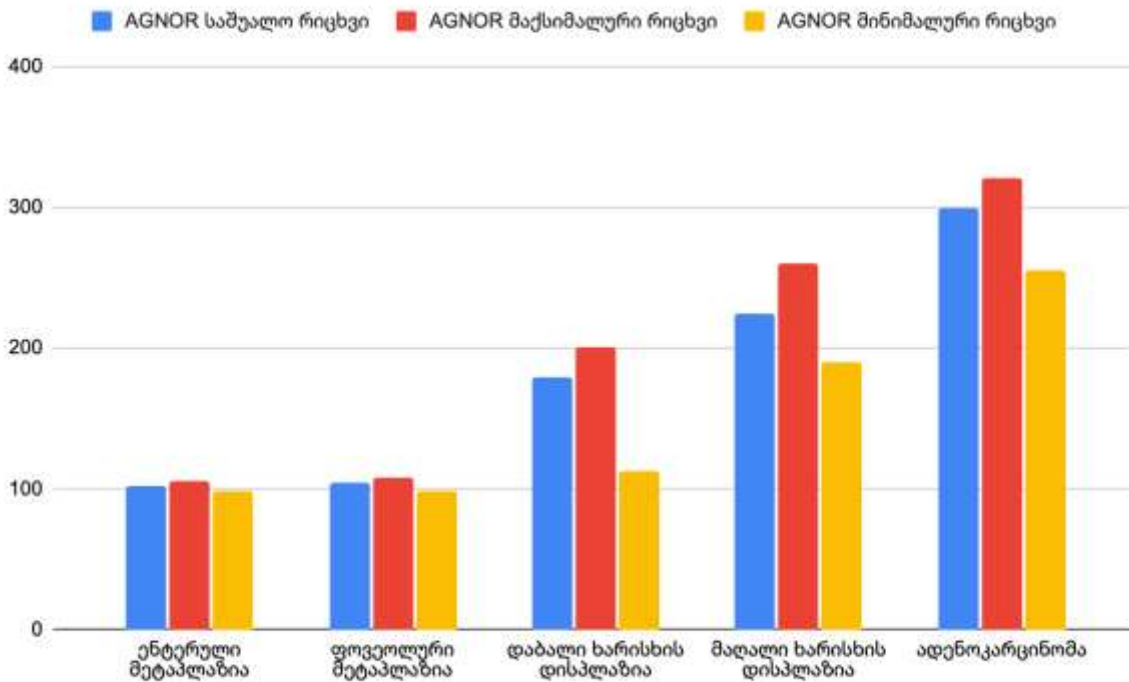
	შემთხვევათა რაოდენობა	AGNOR საშუალო რიცხვი	AGNOR მაქსიმალური რიცხვი	AGNOR მინიმალური რიცხვი	AGNOR საშუალო მაჩვენებელი
ენტერული მეტაპლაზია	6(35)	101,8333333	105	98	1,018333333
ფოვოლური მეტაპლაზია	6(35)	104,5	108	98	1,045
დაბალი ხარისხის დისპლაზია	7(35)	179,1428571	200	112	1,791428571
მაღალი ხარისხის დისპლაზია	8(35)	224,375	260	190	2,24375
ადენოკარცინომა	8(35)	299,125	320	255	2,99125



**სურათი 5:** ბარეტის საყლაპავის დროს არსებული ეპითელიუმის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის უბანი; ბარეტის საყლაპავის შემდგომ განვითარებული ადენოკარცინომის უბანი; H&E 200X

**კვლევის შედეგების ანალიზი**

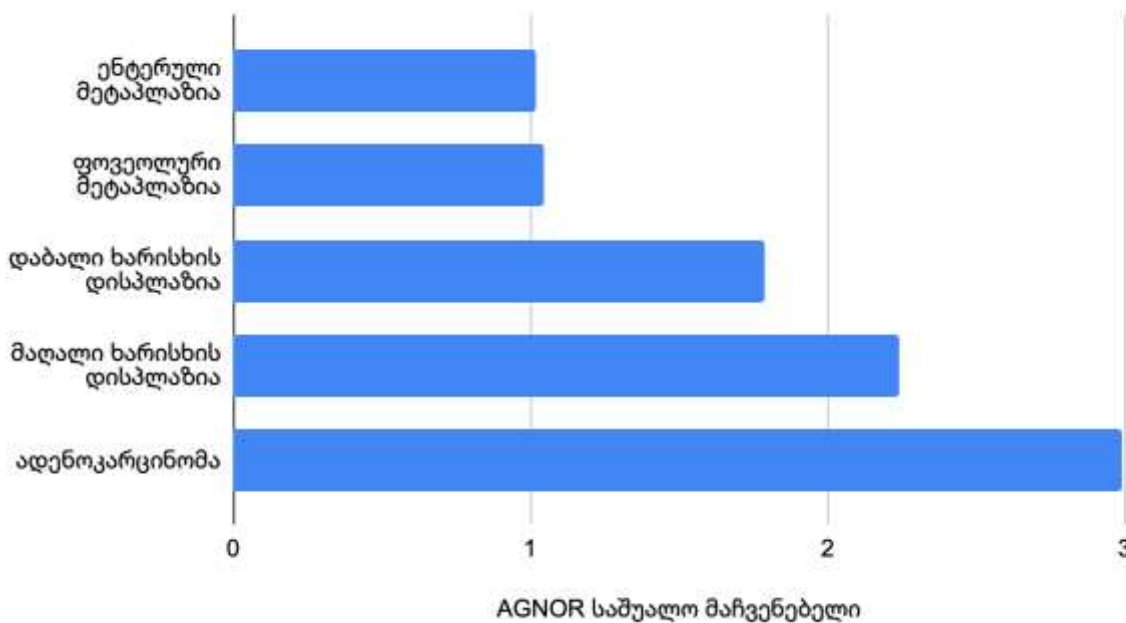
კვლევის შედეგებმა აჩვენა რომ AgNOR-ის რიცხვი მინიმალური აღინიშნებოდა ენტერული მეტაპლაზიის შემთხვევებში და სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა ფოვოლური მეტაპლაზიისაგან. რაც შეეხება დაბალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევებისა AgNOR-ის რიცხვის საშუალო მაჩვენებელი 1.7ჯერ აღემატება მეტაპლაზიის შემთხვევებს. მაღალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევაში AgNOR-ის მაჩვენებელი 1.25ჯერ მეტია დაბალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევებისა და 1.33ჯერ ნაკლებია ადენოკარცინომის შემთხვევისა.



დიაგრამა 1. AgNOR-ის რიცხვის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

AgNOR-ის მაჩვენებელი თითქმის ანალოგიურად არის განაწილებული საკვლევ ჯგუფებში. ყველაზე მაღალი დაფიქსირდა ადენოკარცინომის შემთხვევებში 2.99, რაც 1.67 ჯერ მეტია დაბალი ხარისხის დისპლაზიისა და 1.33ჯერ მაღალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევებზე.

### AGNOR საშუალო მაჩვენებელი



დიაგრამა 2. AgNOR-ის მაჩვენებლის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;



## დასკვნა

AgNOR-ის ტექნოლოგიამ გამოავლინა, რომ პროლიფერაციული აქტივობა მცირედ განსხვავდება დაბალი ხარისხის დისპლაზიის დროს. სარწმუნოდ მაღალია მძიმე დისპლაზიის დროს და მაქსიმალურ პიკს აღწევს ადენოკარცინომის დროს.

AgNOR-ის ტექნოლოგია შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ბარეტის საყლაპავის დროს პროლიფერაციული აქტივობის შესაფასებლად.

## გამოყენებული ლიტერატურა

1. Siegel, R. L., Miller, K. D. & Jemal, A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* **70**, 7–30 (2020).
2. Sung, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* **71**, 209–249 (2021).
3. Wani, S. *et al.* Risk factors for progression of low-grade dysplasia in patients with Barrett’s esophagus. *Gastroenterology* **141**, (2011).
4. Song, Y. *et al.* Identification of Metastasis-Associated Biomarkers in Synovial Sarcoma Using Bioinformatics Analysis. *Front Genet* **11**, 530892 (2020).
5. Kim, C. W. *et al.* Immunohistochemical expression of the p53 and Ki-67 proteins in Barrett’s esophagus in Korea. *Korean J Gastroenterol* **46**, 189–195 (2005).
6. MESHVELIANI, P., DIDAVA, G., TOMADZE, G. & BURKADZE, G. CRITICAL REVIEW: BARRETS OESOPHAGUS – METAPLASIA – DYSPLASIA – MALIGNANT TRANSFORMAYION PHENOTYPICAL CHARACTERISTICS AND PROGRESSION MARKERS. *EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE GEORGIA* (2022) doi:10.52340/JECM.2022.718.
7. Volkweis, B. S. *et al.* Ki-67 Antigen Overexpression Is Associated with the Metaplasia-Adenocarcinoma Sequence in Barrett’s Esophagus. *Gastroenterol Res Pract* **2012**, (2012).
8. Szachnowicz, S. *et al.* Origin of adenocarcinoma in Barrett’s esophagus: p53 and Ki67 expression and histopathologic background. *Clinics (Sao Paulo)* **60**, 103–112 (2005).
9. Goodarzi, M. *et al.* Anti-phosphorylated histone H3 expression in Barrett’s esophagus, low-grade dysplasia, high-grade dysplasia, and adenocarcinoma. *Modern Pathology* **22**, 1612–1621 (2009).

10. Jankowski, J. A. *et al.* Molecular evolution of the metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus. *American Journal of Pathology* **154**, 965–973 (1999).
11. Shaheen, N. J. Advances in Barrett’s esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterology* **128**, 1554–1566 (2005).
12. Karamchandani, D. M. *et al.* Increasing diagnostic accuracy to grade dysplasia in Barrett’s esophagus using an immunohistochemical panel for CDX2, p120ctn, c-Myc and Jagged1. *Diagn Pathol* **11**, (2016).
13. Metreveli, B., Gagua, D., Burkadze, G. & Kepuladze, S. PROLIFERATIVE CHARACTERISTICS OF EUTOPIIC AND ECTOPIC ENDOMETRIUM IN ADENOMYOSIS USING AgNOR TECHNOLOGY. *GEORGIAN SCIENTISTS* **5**, 59–71 (2023).
14. Tavdgiridze, N., Tevdorashvili, G., Kepuladze, S. & Burkadze, G. ASSESSMENT OF PROLIFERATIVE ACTIVITY OF IMMATURE OVARIAN TERATOMAS USING AgNOR TECHNOLOGY. *GEORGIAN SCIENTISTS* **5**, 233–248 (2023).
15. Murgod, S., Channabasaviah, G. H., Shivamurthy, D. M., Ashok, L. & Krishnappa, S. J. Prognostic potential of AgNORs in oral submucous fibrosis. *J Int Soc Prev Community Dent* **6**, 167–75 (2016).
16. Nishie, H., Hirooka, Y. & Kaibara, N. Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions of Breast Tumors: Assessment of Aspirated Cytological Materials. *Breast Cancer* **3**, 189–204 (1996).
17. Chiu, K. Y., Loke, S. L. & Wong, K. K. Improved silver technique for showing nucleolar organiser regions in paraffin wax sections. *J Clin Pathol* **42**, 992–994 (1989).

# Evaluation of proliferative activity of pre-tumor and tumor processes of Barrett's esophagus using AgNOR technology

P. Meshveliani, G. Didava, G. Tomadze, Sh. Kepuladze G. Burkadze

Tbilisi State Medical University

## Abstract

Esophageal carcinoma is the eighth most common malignancy and the sixth leading cause of cancer-related death worldwide. Adenocarcinomas account for the majority of esophageal carcinomas in the US. The incidence of esophageal squamous cell carcinomas is decreasing every year, while the number of adenocarcinomas has not changed over the last three to four decades. It has been established that there is a strong correlation between proliferative activity and a poor tumor prognosis, so the interest in clinical trials of proliferative potential on various markers is still relevant and increasing every year. Within the framework of our research, a cohort retrograde study was carried out, for which the archival material of the teaching-scientific and diagnostic laboratory of Tbilisi State Medical University for the years 2019-2022 was used. Proliferative activity was determined by AgNOR technology in 35 cases evaluated in the following histological entity: Barrett's esophagus with enteric metaplasia; Barrett's esophagus with foveolar metaplasia; Barrett's esophagus with low-grade dysplasia of the epithelium; Barrett's esophagus with high-grade dysplasia of the epithelium; Based on the results of our study, AgNOR technology can be used to evaluate proliferative activity in Barrett's esophagus.

**Keywords:** Barrett's esophagus; AgNOR; dysplasia; metaplasia;