



M1 და M2 მაკროფაგების როლი ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიის ენდომეტრიოიდულ ადენოკარცინომამდე პროგრესირებაში

პაატა ყორჟოლიანი¹; ზაზა ბოხუა²; შოთა კეპულაძე³; გიორგი ბურკაძე⁴

¹თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი; ²თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის მეანობა-გინეკოლოგიისა და რეპროდუქციული ჯანმრთელობის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი; ³თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგანატომი; მედიცინის აკადემიური დოქტორი; ⁴თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი, მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი;

აბსტრაქტი

ენდომეტრიუმის კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიიდან ავთვისებიან ადენოკარცინომამდე პროგრესირება მოიცავს იმუნურ მიკროგარემოში სხვადასხვა სახის კომპლექსურ ურთიერთქმედებას. ჩვენი კვლევა მიზნად ისახავდა იმუნოჰისტოქიმიური ტექნოლოგიის გამოყენებით სხვადასხვა მარკერის ექსპრესიის შეფასებას, როგორცაა მაგალითად M1/M2 მაკროფაგები. ასევე M1/M2 თანაფარდობას, ჰორმონული პროფილის ექსპრესიასა და სიმსივნის მაინფილტრირებელ ლიმფოციტებს (TILs) შორის შესაძლო კავშირის გამოსავლენას. კვლევის დიზაინს წარმოადგენდა რეტროსპექტიული კოჰორტული კვლევა და მოიცავდა 120 შემთხვევას, რომლებიც გადანაწილებულია სამ ნოზოლოგიურ ერთეულში: ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია ატიპიის გარეშე, ჰიპერპლაზია ატიპიით და ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომა. M1/M2 თანაფარდობა და ER/PR ექსპრესია შეფასდა იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის ტექნოლოგიის გამოყენებით. ჩვენმა კვლევამ აჩვენა, რომ M1/M2 თანაფარდობა თანდათან მცირდება ენდომეტრიუმის მარტივი ტიპის ჰიპერპლაზიიდან (საშუალოდ: 2.0) ადენოკარცინომამდე (საშუალოდ: 0.5, $p < 0.01$) პროგრესირებისას, რაც მიუთითებს გადასვლას ანთების საწინააღმდეგოდან (M1 მაკროფაგები) იმუნოსუპრესიულ (M2 მაკროფაგები) მიკროგარემოზე. ჩვენი კვლევის შედეგები აჩვენებს იმუნური და ჰორმონური ფაქტორების კრიტიკულ როლს ენდომეტრიუმის სხვადასხვა ტიპის დაზიანებების პროგრესირებაში. M1/M2 კოეფიციენტის დაქვეითება, TIL-ის პროცენტული მაჩვენებლის ზრდა და ER/PR ექსპრესიის შემცირება დაკავშირებულია ენდომეტრიუმის სიმსივნისწინარე მდგომარეობების ავთვისებიან პროგრესიასთან და დაავადების სიმძიმესთან. ჩვენი კვლევის შედეგები კიდევ ერთხელ ხაზს უსვამს იმუნური მიკროგარემოსა და ჰორმონური გზების მიმართ პერსონალიზებული თერაპიული სტრატეგიების პოტენციალს. საჭიროა ამ მიმართულებით დამატებითი კვლევები ბიომარკერების პერსპექტიული გამოყენებისათვის.

საკვანძო სიტყვები: ენდომეტრიუმის კიბო; ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია; იმუნური მიკროგარემო; მაკროფაგების პოლარიზაცია; M1/M2 თანაფარდობა; TILs;

შესავალი

ენდომეტრიუმის მიკროგარემო არის დინამიური და კომპლექსური ერთეული, რომელზეც გავლენას ახდენს სხვადასხვა ჰორმონური, იმუნური და უჯრედული ურთიერთქმედება, რომლებიც მნიშვნელოვანია ნორმალური ფიზიოლოგიური პროცესებიდან პათოლოგიურ მდგომარეობებამდე ტრანსფორმირებისას [1].

ენდომეტრიუმის მიკროგარემო არის დაავადების განვითარებაში კრიტიკულად მნიშვნელოვანი, განსაკუთრებით ისეთ პირობებში, როგორცაა ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია, ატიპიური ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია და ენდომეტრიუმის ენდომეტროიდული ადენოკარცინომა. ჰორმონური სიგნალის გადაცემის, პროლიფერაციულ-აპოპტოზური მექანიზმებისა და იმუნური უჯრედების პოპულაციების ურთიერთქმედება აყალიბებს კეთილთვისებიანი მდგომარეობიდან ავთვისებიან მდგომარეობამდე პროგრესირებას, სწორედ ამიტომაც ეს ურთიერთქმედებები გადაწყვეტია ბიომარკერებისა და პოტენციური თერაპიული სამიზნეების იდენტიფიცირებისთვის [2].

ენდომეტრიუმის კიბო 2022 წლის მონაცემებით მთელს მსოფლიოში, ქალთა პოპულაციაში რეპროდუქციული სისტემის ყველაზე გავრცელებული ავთვისებიანი სიმსივნეა 420 000-ზე მეტი ახალი შემთხვევით და 97 000 ლეტალური გამოსავლით. ახალი დიაგნოსტიკური და თერაპიული სტრატეგიების მიღწევების მიუხედავად, მნიშვნელოვანი ხარვეზები რჩება ადრეული გამოვლენის, რისკის სტრატეგიკაციისა და დაავადების პროგრესირების საფუძვლად არსებული მოლეკულური მექანიზმების გაგებაში. ისეთი მცდელობები, როგორცაა კიბოს გენომის ატლასის (TCGA) მოლეკულური კლასიფიკაციები, ხაზს უსვამს ენდომეტრიუმის კიბოს ჰეტეროგენობას და გამოავლენს მოლეკულურ ქვეტიპებს, როგორც პროგნოზისა და თერაპიული პასუხის კრიტიკულად მნიშვნელოვან განმსაზღვრელ ფაქტორებს. [3], [4]

ჰორმონური ცვლილებები მნიშვნელოვნად მოქმედებს ენდომეტრიუმის მიკროგარემოზე, განსაკუთრებით რეპროდუქციულ და პერიმენოპაუზურ ქალებში. ესტროგენისა და პროგესტერონის ჰორმონალური დერძი თამაშობს ცენტრალურ როლს ენდომეტრიუმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში. თუმცა, ისეთი აბერაციები, როგორცაა ესტროგენის ჭარბი აქტივობა ან პროგესტერონის დაქვეითებული რეაქცია, მჭიდროდ არის დაკავშირებული უჯრედების აბნორმალურ პროლიფერაციასთან, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ჰიპერპლაზია და ავთვისებიანი სიმსივნე. კვლევები ხაზს უსვამს, რომ ჰორმონული დისბალანსის გახანგრძლივება, განსაკუთრებით პერიმენოპაუზურ ქალებში, ამძაფრებს პათოლოგიური ტრანსფორმაციის რისკს, რაც ხაზს უსვამს ენდომეტრიუმის პათოლოგიების ჰორმონური საფუძვლების უფრო ღრმად შესწავლის აუცილებლობას. [4], [5], [6]

რეპროდუქციული და პერიმენოპაუზის ასაკის დაყოფა კონკრეტულ ასაკობრივ დიაპაზონებად (მაგ., 18-45 წელი რეპროდუქციული ასაკისთვის და 46-55 წელი პერიმენოპაუზური ასაკისთვის) არ არის პირდაპირ ასახული, როგორც ოფიციალური კლასიფიკაცია ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის (WHO) მიერ. თუმცა, იგი ფართოდ გამოიყენება კლინიკურ პრაქტიკაში და კვლევაში, როგორც ქალის ცხოვრების ფიზიოლოგიური და ჰორმონური სტადიების აღწერის საშუალება. ჯანმო აღიარებს რეპროდუქციულ ასაკს რეპროდუქციული ჯანმრთელობის შესახებ არსებულ ლიტერატურაში, როგორც წესი, 15-დან 45 წლამდე. ეს ფართო სპექტრი ხშირად გამოიყენება გლობალური საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის კონტექსტში, მათ შორის დედათა ჯანმრთელობისა და ნაყოფიერების კვლევებში. ჯანმო არ განსაზღვრავს მკაცრ ქვედა ან ზედა ზღვარს რეპროდუქციული ასაკისთვის კლინიკური თვალსაზრისით, რადგან ის სრულიად შეესაბამება ბიოლოგიური ნაყოფიერების მდგომარეობას.

ჯანმო განსაზღვრავს პერიმენოპაუზას, როგორც მენოპაუზისკენ მიმავალ გარდამავალ ფაზას, რომელიც ხასიათდება ჰორმონალური რყევებით და მენსტრუალური დარღვევებით. ეს ეტაპი იწყება მენოპაუზის დაწყებამდე რამდენიმე წლით ადრე და მთავრდება ბოლო მენსტრუაციიდან ერთი წლის შემდეგ.[7]

ასაკობრივი დიაპაზონი, რომელიც ჩვეულებრივ გამოიყენება კლინიკურ და ეპიდემიოლოგიურ კვლევებში (მაგ., 18-45 წელი რეპროდუქციული ასაკისთვის და 46-55 წელი პერიმენოპაუზის ასაკში) არის ფიზიოლოგიური ნორმებიდან მიღებული მიახლოებები და დადასტურებული მტკიცებულებებით და არა WHO-ს ოფიციალური გაიდლაინებით.

ეს კლასიფიკაცია ხელს უწყობს რისკებისა და ინტერვენციების სტრატეგიკაციას ისეთ პირობებში, როგორიცაა ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია, კიბო და ჰორმონალური დარღვევები.

ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემო მჭიდრო კავშირშია მის ფიზიოლოგიურ და პათოლოგიურ მდგომარეობებთან. ის წარმოდგენილია სხვადასხვა იმუნური უჯრედებით, მათ შორის T ლიმფოციტებით, B ლიმფოციტებით, მაკროფაგებითა და ბუნებრივი მკვლელი (NK) უჯრედებით. ეს უჯრედები ხელს უწყობენ იმუნურ მეთვალყურეობას და მოდულაციას, ორმაგ როლს ასრულებენ სიმსივნის დათრგუნვასა და პროგრესირებაში. განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა მაკროფაგებს, რომლებიც ავლენენ ფუნქციურ პლასტიურობას. ადგილობრივი სიგნალიდან გამომდინარე, მათ შეუძლიათ პოლარიზება M1 (ანთების საწინააღმდეგო, სიმსივნის დამთრგუნველი) ან M2 (ანთების საწინააღმდეგო, სიმსივნის ხელშემწყობ) ფენოტიპებად. ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს M2 მაკროფაგების დომინირება დაკავშირებულია იმუნური მექანიზმების დაზიანებასთან, გაძლიერებულ ანგიოგენეზთან და მეტასტაზირების პროცესებთან. მაშინ, როცა M1 მაკროფაგები დაკავშირებულია სიმსივნის საწინააღმდეგო იმუნიტეტთან, რაც ასახავს მაკროფაგების როლის სირთულეს ენდომეტრიუმის პათოლოგიაში. [6]

იმუნური უჯრედების ურთიერთქმედება პროლიფერაციულ-აპოპტოზურ გზებთან არის ასევე მნიშვნელოვანი სიმსივნის დინამიკის ფორმირებაში. გენეტიკური და ეპიგენეტიკური

ცვლილებებით გამოწვეული დარღვეული გზები ახდენს უჯრედულ ცვლაზე ზემოქმედებას. პროლიფერაციული მარკერები, როგორცაა Ki-67 და აპოპტოზური მარკერები, როგორცაა კასპაზა-3, იდენტიფიცირებულია, როგორც კრიტიკული მოთამაშეები ამ პროცესებში. იმუნური უჯრედების, განსაკუთრებით მაკროფაგების, გავლენა ამ გზებზე ციტოკინების გამოთავისუფლებისა და უჯრედ-უჯრედული პირდაპირი ურთიერთქმედების გზით კიდევ უფრო ხაზს უსვამს ენდომეტრიუმის დაავადების პროგრესირების სირთულეს.[8], [9]

ახალი მტკიცებულებები ხაზს უსვამს საშვილოსნოს მიკრობიომის როლს ენდომეტრიუმში იმუნური და ანთებითი რეაქციების ფორმირებაში. დისბიოზი, ან მიკრობული დისბალანსი, დაკავშირებულია ანთებით გზებსა და კანცეროგენეზში. მიკრობული შემადგენლობის ცვლილებები, როგორცაა შემცირებული *Lactobacillus spp.* და გაზრდილი პათოგენური სახეობები, დაკავშირებულია ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიასთან და ავთვისებიან სიმსივნესთან. ეს დასკვნები ვარაუდობს, რომ მიკრობიომზე მიზანმიმართული ინტერვენციები შეიძლება გახდეს ღირებული ინსტრუმენტი ენდომეტრიუმის პათოლოგიების მართვისთვის.[10], [11]

იმუნური უჯრედების პოპულაციების სივრცითი და რაოდენობრივი განაწილება, განსაკუთრებით M1 და M2 მაკროფაგები, იძლევა ღირებულ შეხედულებებს ენდომეტრიუმის კიბოსწინარე და კიბოს მდგომარეობების იმუნური დინამიკის შესახებ. არსებულმა კვლევებმა ხაზგასმით გამოავლინა მაკროფაგების პოლარიზაციის კრიტიკული როლი სხვადასხვა გინეკოლოგიურ კიბოს შემთხვევებში. თუმცა, M1 და M2 მაკროფაგების სპეციფიკური როლი ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიასა და კარცინომაში ჯერ კიდევ არ არის შესწავლილი. ჩვენი ცოდნის ეს ნაკლოვანებები ხაზს უსვამს ამ იმუნური უჯრედების ქვეჯგუფებზე ფოკუსირებული კვლევის აუცილებლობას, რათა გაირკვეს მათი წვლილი დაავადების ინიცირებასა და პროგრესირებაში.

ჩვენი კვლევა იყენებს იმუნოჰისტოქიმიურ ტექნოლოგიას (IHC) ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს გასაანალიზებლად, ფოკუსირებულია M1 და M2 მაკროფაგების ექსპრესიაზე ენდომეტრიუმის სიმსივნისწინარე და სიმსივნური მდგომარეობებისას. 2017 წლიდან 2025 წლამდე საარქივო მასალის გამოყენებით, რომელიც მოიცავს ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიის, ატიპური ჰიპერპლაზიის და ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომის შემთხვევებს, კვლევა მიზნად ისახავს შექმნას ძლიერი მონაცემთა ბაზა ამ იმუნური მარკერების შესწავლით ჰორმონური და პროლიფერაციულ-აპოპტოზური ცვლილებების კონტექსტში, ასევე იმუნურ-ენდომეტრიუმის ურთიერთქმედების შესახებ, რაც საბოლოოდ ხელს შეუწყობს ენდომეტრიუმის დაავადებების ახალი დიაგნოსტიკური და თერაპიული სამიზნების იდენტიფიცირებას.

მასალები და მეთოდები

კვლევის დიზაინი: ჩვენი კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტული დიზაინის მქონე კვლევას, რომელიც აანალიზებდა ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიის, ატიპური ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიისა და ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომის ჰისტოლოგიური დიაგნოზის მქონე პაციენტთა საარქივო მასალას. საარქივო მასალა

შეგროვდა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სასწავლო-სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიიდან, რომელიც მოიცავს 2017-2025 წლებს. პაციენტის შესახებ ინფორმაცია იყო ანონიმური, არაპერსონიფიცირებული, რათა უზრუნველყოფილიყო საფუძვლიანი ანალიზი ეთიკური სტანდარტების დაცვით.

კვლევა მოიცავდა სამ განსხვავებულ ჯგუფს: ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია - 40 შემთხვევა; ენდომეტრიუმის ატიპიური ჰიპერპლაზია - 40 შემთხვევა; ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომა - 40 შემთხვევა;

კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმები: ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიის, ატიპიური ჰიპერპლაზიის ან ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომის ჰისტოლოგიურად დადასტურებული დიაგნოზი. ქსოვილის ადეკვატურობა და შესაბამისი კლინიკური მონაცემების ხელმისაწვდომობა. მანამდე ონკოლოგიური კუთხით არანამკურნალები პაციენტები;

გამორიცხვის კრიტერიუმები: ცუდად ფიქსირებული ქსოვილის ნიმუშები. პაციენტები თანმხლები სისტემური ანთებითი ან აუტოიმუნური დაავადებებით.

რეპროდუქციული და პერიმენოპაუზის ასაკის დაყოფა განხორციელდა შემდეგ ასაკობრივ დიაპაზონებად (მაგ., 18-45 წელი რეპროდუქციული ასაკისთვის და 46-55 წელი პერიმენოპაუზური ასაკისთვის).

ფორმალინში ფიქსირებული, პარაფინით ჩაყალიბებული (FFPE) ქსოვილის ბლოკები მოძიებული იყო ჰისტოპათოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზისთვის. თითოეული ქსოვილის ბლოკი დაჭრილი იქნა 2-4 მკმ სისქეზე მიკროტომის გამოყენებით და დაფიქსირდა დამუხტულ-სლაიდებზე. ქსოვილები შეიღება ჰემატოქსილინისა და ეოზინის (H&E) სტანდარტული პროტოკოლის თანახმად ავტომატურ შეღების აპარატში.

იმუნოჰისტოქიმია (IHC): გამოყენებულ იქნა შესაბამისი ანტისხეულები M1 მაკროფაგები: Anti-CD68 და M2 მაკროფაგები: Anti-CD163; და იმუნოჰისტოქიმიური ვიზუალიზაციის სისტემა Novolink Polymer Detection System. ანტისხეულები და ვიზუალიზაციის სისტემა მოწოდებულია Leica-ს მწარმოებლის მიერ.

IHC პროტოკოლი: ქსოვილის ანათლები დეპარაფინიზებული იყო ქსილოლში და რეჰიდრატირებული იყო ეთანოლის ხსნარებით. ანტიგენის აღდგენა განხორციელდა ციტრატის ბუფერის გამოყენებით (pH 6.0) რეგულირებადი ხელსაწყო დახმარებით 20 წუთის განმავლობაში.

ენდოგენური პეროქსიდაზას აქტივობა დაიბლოკა ინკუბაციით 3% წყალბადის ზეჟანგით 10 წუთის განმავლობაში. ანათლები ინკუბირებული იყო ღამით 4°C-ზე პირველადი ანტისხეულებით ოპტიმიზებული განზავების დროს. მეორადი ანტისხეულები, რომლებიც კონიუგირებული იყო რძის პეროქსიდაზასთან (HRP) გამოიყენებულ იქნა 30 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. ქრომოგენული გამოვლენა ჩატარდა 3,3'-

დიამინობენზიდინის (DAB) გამოყენებით. **ხარისხის კონტროლი:** დადებითი კონტროლი - ქსოვილები, რომლებიც ცნობილია სამიზნე ანტიგენების ექსპრესიით;

იმუნური უჯრედების რაოდენობრივი განსაზღვრა: იმუნური უჯრედების ექსპრესია (M1 და M2 მაკროფაგები) რაოდენობრივად შეფასდა სამ მაღალი მხედველობის ველში (400 X HPF) თითო სლაიდზე ციფრული გამოსახულების ანალიზის პროგრამული უზრუნველყოფის QuPath-ის გამოყენებით. სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტების პროცენტული შემცველობა ასევე განისაზღვრა H&E ტექნოლოგიით შეღებულ ანათლებზე შესაბამისი International Tils Working Group-ის მიერ მოწოდებული პროტოკოლების გათვალისწინებით.

M1 და M2 მაკროფაგების თანაფარდობა გამოითვლებოდა თითოეული შემთხვევისთვის.

სტატისტიკური ანალიზი: აღწერილობითმა სტატისტიკამ შეაჯამა იმუნური უჯრედების სიმკვრივე და M1/M2 თანაფარდობა.

შედარებითი ანალიზები პათოლოგიურ ჯგუფებს შორის ჩატარდა ANOVA-ს გამოყენებით ნორმად განაწილებული მონაცემებისთვის ან Kruskal-Wallis-ის ტესტების გამოყენებით არაპარამეტრული მონაცემებისთვის. კორელაციები იმუნურ პროფილებსა და კლინიკოპათოლოგიურ მახასიათებლებს შორის შეფასდა სპერმანის კორელაციის გამოყენებით.

სტატისტიკურად სარწმუნო მნიშვნელობად განისაზღვრა $p < 0.05$. ანალიზები ჩატარდა SPSS პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით (ვერსია 26.0).

კვლევა მხარდაჭერილია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკის კომისიის განხილვის საბჭოსგან. ინფორმირებული თანხმობა მოხსნილი იყო კვლევის რეტროსპექტული ხასიათის გამო და პაციენტის ყველა მონაცემი ანონიმური იყო კონფიდენციალურობის უზრუნველსაყოფად.

კვლევის მონაცემები შედარდა არსებულ ლიტერატურასთან, რათა დადგინდეს უფრო სარწმუნოდ იმუნური დინამიკის მსგავსი ცვლილებები სხვადასხვა ენდომეტრიუმის პათოლოგიებში.

ეს ყოვლისმომცველი მეთოდოლოგია უზრუნველყოფს ენდომეტრიუმის მიკროგარემოს იმუნური მიკროგარემოს სარწმუნო ანალიზს, რაც ხელს უწყობს დაავადების პროგრესირების მექანიზმების გამოვლენას.

შედეგები

აღწერითი სტატისტიკური ანალიზის თანახმად კვლევაში ჩართული იყო პრემენოპაუზური 35% და პოსტმენოპაუზური 65% ენდომეტრიუმის შემთხვევა. ჰისტერექტომიის ნიმუშები შეადგენდა 60%-ს, ხოლო კიურეტაჟის შედეგად მიღებული ნიმუშები შეადგენდა შემთხვევების 40%-ს.

იმუნური და ჰორმონური მარკერების ანალიზმა აჩვენა შემდეგი განაწილება. M1/M2 თანაფარდობა: საშუალო M1/M2 თანაფარდობა იყო 1.22 (SD: 0.84). კოეფიციენტები ყველაზე

მაღალი იყო ჰიპერპლაზიაში ატიპიის გარეშე (საშუალოდ: 2.0), ხოლო ჰიპერპლაზიაში ატიპიით (საშუალოდ: 0.75) და ყველაზე დაბალი ადენოკარცინომაში (საშუალოდ: 0.5; $p < 0.01$).

Binomial Test

	Level	Count	Total	Proportion	p	95% Confidence Interval	
						Lower	Upper
Histopathological Diagnose	Endometrial Endometrioid Adenocarcinoma	40	120	0.333	<.001	0.2499	0.425
	Endometrial Hyperplasia with Atypia	40	120	0.333	<.001	0.2499	0.425
	Endometrial Hyperplasia without Atypia	40	120	0.333	<.001	0.2499	0.425
pT stage	0	80	120	0.667	<.001	0.5748	0.750
	1	20	120	0.167	<.001	0.1049	0.246
	2	20	120	0.167	<.001	0.1049	0.246
Age	0	30	120	0.250	<.001	0.1755	0.337
	1	90	120	0.750	<.001	0.6627	0.825
Specimen Type	Curetage	30	120	0.250	<.001	0.1755	0.337
	Hysterectomy	90	120	0.750	<.001	0.6627	0.825
Histological Differentiation	0	80	120	0.667	<.001	0.5748	0.750
	1	20	120	0.167	<.001	0.1049	0.246
	2	10	120	0.083	<.001	0.0407	0.148
	3	10	120	0.083	<.001	0.0407	0.148

Note. H_0 is proportion = 0.5

ცხრილი 1: ბინომინალური ტესტის შედეგები კვლევაში ჩართული შემთხვევების ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზების; მასალის ტიპის; პაციენტის ასაკის; ავთვისებიან სიმსივნეების ჰისტოლოგიური დიფერენციაციისა და პათოლოგიური pT-ის განაწილება;

რაც შეეხება სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტების TILs%-ის განაწილებას. უმნიშვნელო TILs-ის ინფილტრაცია დაფიქსირდა ჰიპერპლაზიაში ატიპიის გარეშე, ხოლო TILs% პროგრესულად გაიზარდა ადენოკარცინომაში (საშუალოდ: 15%, $p < 0.01$).

ER/PR ექსპრესია დაფიქსირდა ყველაზე მაღალი ჰიპერპლაზიის დროს ატიპიის გარეშე (ER: 80%, PR: 70%), ზომიერი ხარისხის ჰიპერპლაზიის დროს ატიპიით (ER: 60%, PR: 50%) და ყველაზე დაბალი ადენოკარცინომაში (ER: 30). %, PR: 20% $p < 0.05$).

შესწავლილ ჯგუფებში რაიმე სახის ქრონიკული დაავადება და სისტემური მდგომარეობები არ ფიქსირდებოდა შემთხვევების 50%-ში, პრედიამეტური მდგომარეობა გვხვდებოდა (5%), დიაბეტი (10%) და სიმსუქნე (25%). სიმსუქნე უფრო ხშირი იყო ჰიპერპლაზიის დროს ატიპიით (ჭარბი შემთხვევების 45%, $p < 0.05$).

ჯგუფებს შორის შედარებითა ანალიზმა აჩვენა: M1/M2 თანაფარდობა: პრემენოპაუზურ ქალებს ჰქონდათ უფრო მაღალი კოეფიციენტი (საშუალოდ: 1.8) პოსტმენოპაუზურ ქალებთან შედარებით (1.1, $p < 0.05$).

სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტების TILs%: პოსტმენოპაუზურ ქალების შემთხვევებში ნაჩვენებია მნიშვნელოვნად მაღალი TILs ინფილტრაცია (საშუალოდ: 18%, $p < 0.01$) ადენოკარცინომის შემთხვევებში.

ER/PR ექსპრესია: უფრო მაღალია პრემენოპაუზურ ქალებში (ER: 75%, PR: 65%)
 პოსტმენოპაუზურ ქალებთან შედარებით (ER: **50%, PR: 40%; $p < 0.05$).

Correlation Matrix

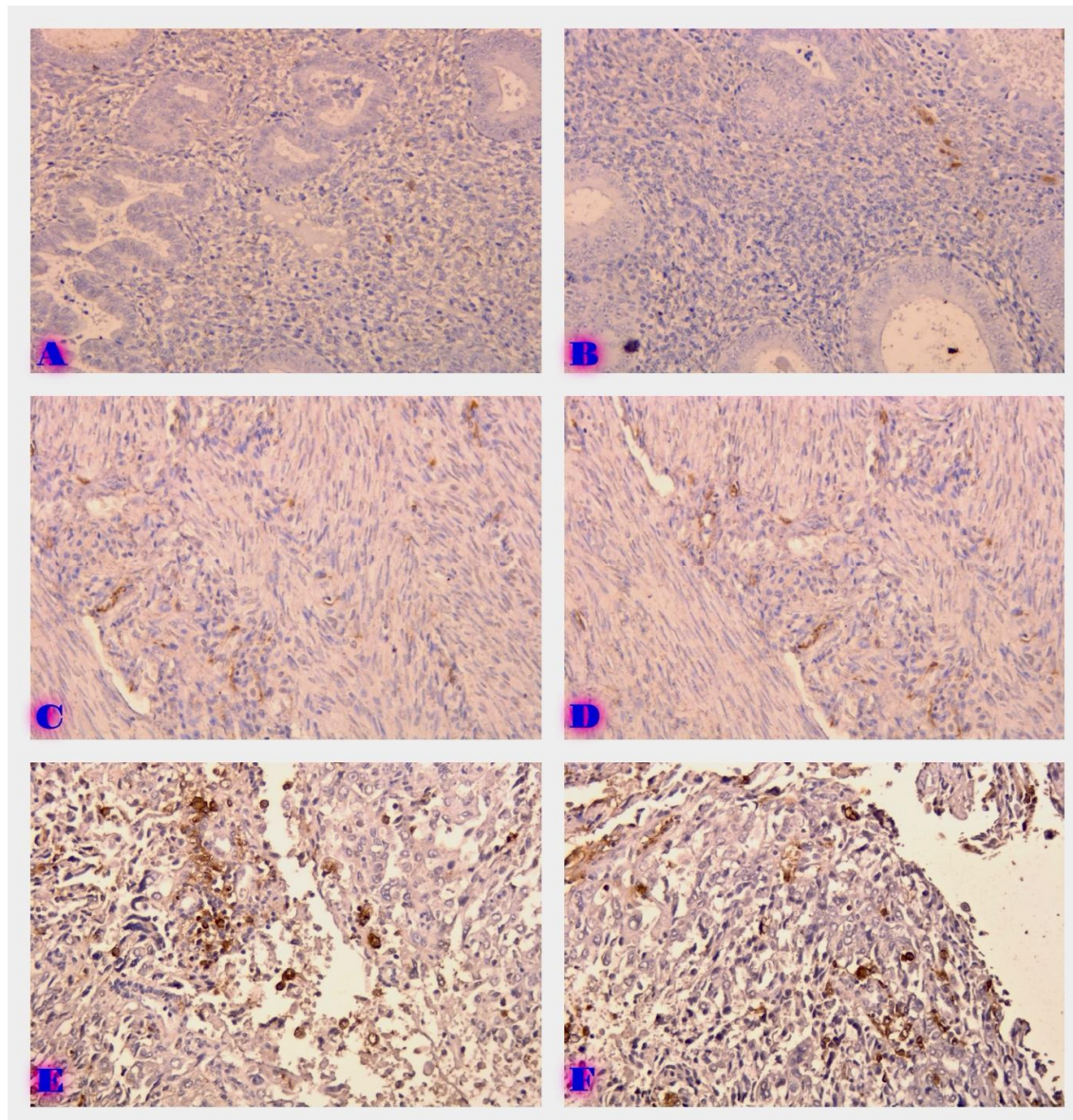
Correlation Matrix		M1/M2 Ratio	Histological Differentiation	TILs %
M1/M2 Ratio	Pearson's r	—		
	df	—		
	p-value	—		
Histological Differentiation	Pearson's r	-0.463	—	
	df	118	—	
	p-value	<.001	—	
TILs %	Pearson's r	-0.637	0.363	—
	df	118	118	—
	p-value	<.001	<.001	—

ცხრილი 2: მაკროფაგების განაწილების, სიმსივნის მაინფილტრირებული ლიმფოციტებისა და ენდომეტრიუმის ენდომეტროიდული ადეკონარცინომის ჰისტოლოგიური დიფერენციაციის კორელაციური კავშირები;

ჰიპერპლაზია ატიპიის გარეშე აღნიშნულ ჯგუფში დაფიქსირდა: მაღალი M1/M2 კოეფიციენტები (2.0, $p < 0.01$) უმნიშვნელო TIL-ებით (0%) და ძლიერი ER/PR ექსპრესიით.

ჰიპერპლაზია ატიპიით აღნიშნულ ჯგუფში დაფიქსირდა: ზომიერი M1/M2 თანაფარდობა (0.75) და მზარდი TIL-ები (5-10%), ER/PR ექსპრესიის დაქვეითებასთან ერთად ($p < 0.05$).

ადენოკარცინომის ჯგუფში დაფიქსირდა: დაბალი M1/M2 თანაფარდობა (0.5, $p < 0.01$) და TIL-ის ყველაზე მაღალი ინფილტრაცია (15%, $p < 0.01$) ჰორმონალური რეცეპტორების ექსპრესიის მნიშვნელოვანი დაკარგვით.



სურათი 1: A. CD68 ექსპრესია ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია ატიპიის გარეშე შემთხვევაში IHC 400X; B. CD163 ექსპრესია ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია ატიპიის გარეშე შემთხვევაში IHC 400X; C. CD68 ექსპრესია ენდომეტრიუმის ატიპური ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში IHC 400X; D. CD163 ექსპრესია ენდომეტრიუმის ატიპური ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში IHC 400X; E. CD68 ექსპრესია ენდომეტრიუმის ენდომეტროიდული კარცინომის შემთხვევაში IHC 400X; F. CD163 ექსპრესია ენდომეტრიუმის ენდომეტროიდული კარცინომის შემთხვევაში IHC 400X; E.

განსჯა

ჩვენი კვლევის ფარგლებში შეფასდა ენდომეტრიუმის სხვადასხვა დაზიანებების პროგრესირებისას იმუნური მიკროგარემოს, ჰორმონალური რეცეპტორების სტატუსის თავისებურებები. M1/M2 თანაფარდობის შესამჩნევი დაქვეითება ჰიპერპლაზიიდან ატიპიის გარეშე ადენოკარცინომამდე ხაზს უსვამს გადასვლას ანთების პროფილაქტიკურიდან იმუნოსუპრესიულ მიკროგარემოზე. მაღალი M1 მაკროფაგების სიმკვრივე ჰიპერპლაზიაში

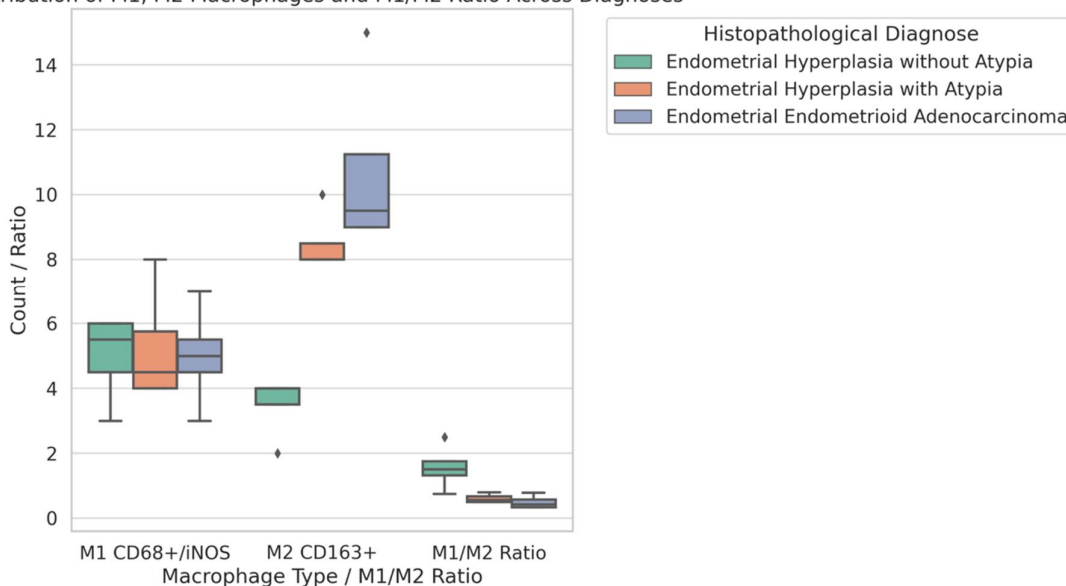
ატიპიის გარეშე (M1/M2 თანაფარდობა: 2.0) შეესაბამება ტანგის და სხვების დასკვნებს[12]. რომლებმაც თავიანთ კვლევაში ასევე განაცხადეს M1 მაკროფაგების დამცავი როლის შესახებ ენდომეტრიუმის კეთილთვისებიან პირობებში. და გამოავლინეს ასევე M2 მაკროფაგების ინფილტრაციის სიჭარბე ადენოკარცინომაში (M1/M2 თანაფარდობა: 0.5, $p < 0.01$) ემთხვევა ჟაოს და სხვების კვლევებს[13], აჩვენებს მათ როლს იმუნური ზედამხედველობის აცილებისა და სიმსივნის პროგრესირებაში.

TIL-ების პროგრესირებადი ზრდა ჰიპერპლაზიიდან ადენოკარცინომამდე ხაზს უსვამს იმუნური სისტემის მიერ ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის დეტექციას. გაზრდილი TIL-ები ადენოკარცინომაში (15%, $p < 0.01$) ადასტურებს Cunha et al-ის დასკვნებს[14], რომელმაც გამოავლინა უფრო მაღალი TIL სიმკვრივეები უკეთესი შედეგების მქონე პაციენტებში. თუმცა, სიმსივნური ანტიგენების ქრონიკულმა ზემოქმედებამ შეიძლება გამოიწვიოს იმუნური ამოწურვა, როგორც აღწერილია Makker et al[7].

ER/PR ექსპრესიის დაქვეითება კეთილთვისებიანი მდგომარეობიდან ავთვისებიან მდგომარეობამდე ასახავს ჰორმონალური რეგულირების დაკარგვას. რეცეპტორების მაღალი ექსპრესია ჰიპერპლაზიაში ატიპიის გარეშე (ER: **80%, PR: 70%) მიუთითებს მგრძნობელობაზე ჰორმონალური თერაპიის მიმართ, როგორც აღნიშნა Bochman [7]. ამის საპირისპიროდ, PR-ის მნიშვნელოვანი დაქვეითება ადენოკარცინომაში (PR: 20%, $p < 0.01$) მხარს უჭერს Amanth and other დასკვნებს, აკავშირებს მას სიმსივნის უფრო მაღალ ხარისხთან და ცუდ პროგნოზთან[15].

M1/M2 თანაფარდობა: M1/M2 თანაფარდობის პროგრესირებადი შემცირება ჰიპერპლაზიიდან ადენოკარცინომამდე მიუთითებს მის პოტენციალს, როგორც დაავადების პროგრესირებისა და პროგნოზის ბიომარკერს.

Distribution of M1, M2 Macrophages and M1/M2 Ratio Across Diagnoses



დიაგრამა 1: boxplots ნახატები საშუალებას იძლევა სხვადასხვა ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზის შემთხვევაში დეტალური შედარების თითოეული მაკროფაგის ტიპისა და თანაფარდობისთვის;

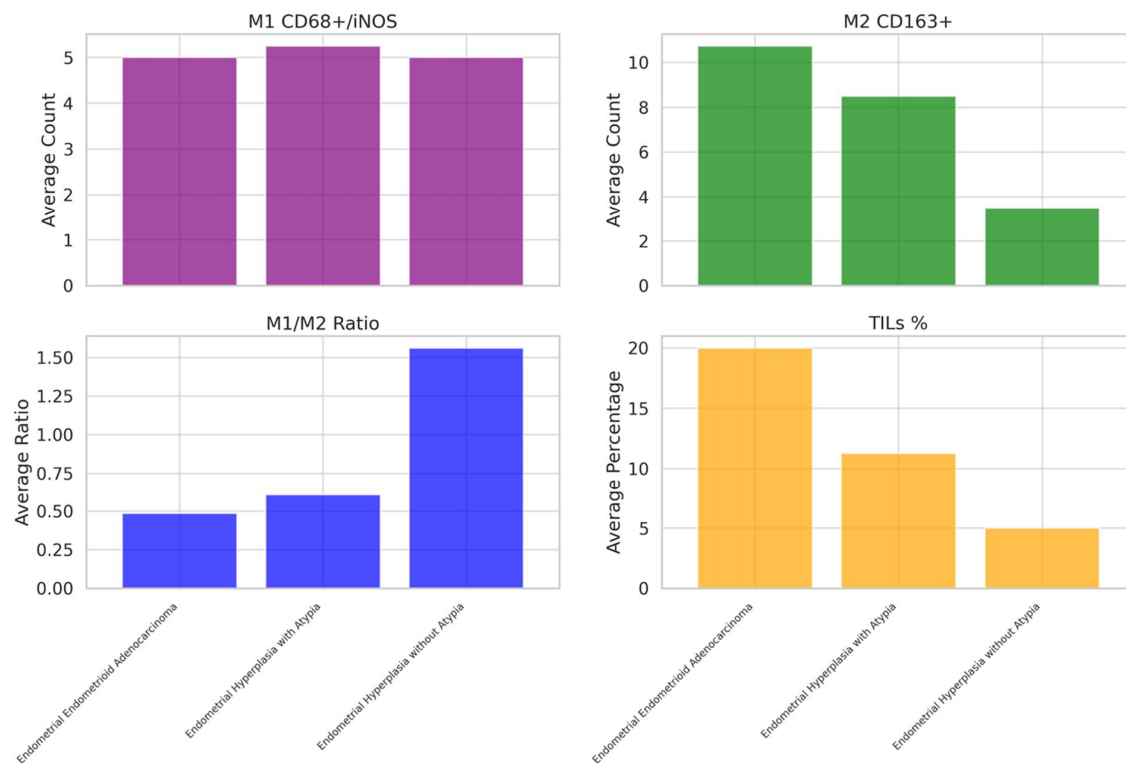
TIL-ები და იმუნური გამშვები პუნქტები: ადენოკარცინომაში გაზრდილი TIL მიუთითებს იმუნური გამშვები პუნქტის ინჰიბიტორებზე შესაძლო რეაგირებაზე.

ჰორმონალური თერაპია: დაავადების ადრეულ სტადიაზე PR სიგნალის აღდგენამ შეიძლება შეაფერხოს პროგრესირება ჰორმონზე პასუხისმგებელ სიმსივნეებში.

მეტაბოლური მოდულაცია: ცხოვრების სტილის ინტერვენციებმა, რომლებიც მიმართულია სიმსუქნისა და დიაბეტის მიმართ, შეიძლება შეამსუბუქოს სიმსივნის პროგრესირება იმუნური და ჰორმონალური ბალანსის აღდგენით.

ჩვენი კვლევის შეზღუდულობა მდგომარეობს შემდეგში: რეტროსპექტულმა დიზაინმა და ნიმუშის მცირე რაოდენობამ (n=120) შეიძლება შეზღუდოს მიღებული შედეგების განზოგადება. მოლეკულური პროფილის არარსებობა (მაგ., POLE; MSI სტატუსი);

Summary of Important Findings by Histological Diagnosis



დიაგრამა 2: M1 და M2 მაკროფაგების ასევე M1/M2 თანაფარდობისა და სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტების გადანაწილება სხვადასხვა ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზის მიხედვით.

დასკვნა

ჩვენ მიერ ჩატარებული კვლევა ავლენს კომპლექსურ ურთიერთკავშირს ენდომეტრიუმის იმუნურ მიკროგარემოსა და ჰორმონურ რეგულაციას შორის. M1/M2 თანაფარდობისა და ჰორმონალური რეცეპტორების ექსპრესიას პროგრესირებად დაქვეითებას ადგილი აქვს სიმსივნისწინარე პროცესებიდან ავთვისებიანი პროცესებად ტრანსფორმაციისას. აღინიშნება

გაზრდილი TIL-ის ინფილტრაცია დაავადების პროგრესირებასთან ერთად, განსაკუთრებით პოსტმენოპაუზურ ქალებში. ჩვენი კვლევის საფუძველზე შესაძლოა ვივარაუდოთ რომ M1/M2 თააფარდობას, სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტების TIL-ების და ER/PR ექსპრესის შეფასებას როგორც დიაგნოსტიკური და პროგნოზული მარკერების პოტენციალი აქვს.

ჩვენი კვლევის შედეგები ასევე ხაზს უსვამს ინტეგრირებული მიდგომის აუცილებლობას, რომელიც გააერთიანებს იმუნურ მოდულაციასა და ჰორმონალური თერაპიულ ჩარევებს ენდომეტრიუმის პათოლოგიების კლინიკური მენეჯმენტის გასაუმჯობესებლად. მომავალი კვლევა ფოკუსირებული უნდა იყოს მოლეკულურ პროფილირებაზე და ამ მარკერების პერსპექტიულ ვალიდაციაზე პერსონალიზებული თერაპიული სტრატეგიების შემუშავებისათვის.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] J. Tu *et al.*, "Growth arrest-specific transcript 5 represses endometrial cancer development by promoting antitumor function of tumor-associated macrophages," *Cancer Sci*, vol. 113, no. 8, pp. 2496–2512, Aug. 2022, doi: 10.1111/cas.15390.
- [2] S. Mei *et al.*, "PRMT5 promotes progression of endometrioid adenocarcinoma via ER α and cell cycle signaling pathways," *Journal of Pathology: Clinical Research*, vol. 7, no. 2, pp. 154–164, Mar. 2021, doi: 10.1002/cjp2.194.
- [3] M. Bied, W. W. Ho, F. Ginhoux, and C. Blériot, "Roles of macrophages in tumor development: a spatiotemporal perspective," *Cell Mol Immunol*, vol. 20, no. 9, pp. 983–992, Sep. 2023, doi: 10.1038/s41423-023-01061-6.
- [4] H. Tong *et al.*, "Tumor-associated macrophage-derived CXCL8 could induce ER α suppression via HOXB13 in endometrial cancer," *Cancer Lett*, vol. 376, no. 1, pp. 127–136, Jun. 2016, doi: 10.1016/J.CANLET.2016.03.036.
- [5] B. Allard, M. S. Longhi, S. C. Robson, and J. Stagg, "The ectonucleotidases CD39 and CD73: Novel checkpoint inhibitor targets," *Immunol Rev*, vol. 276, no. 1, pp. 121–144, Mar. 2017, doi: 10.1111/IMR.12528.
- [6] A. S. Uduwela, M. A. K. Perera, L. Aiqing, and I. S. Fraser, "Endometrial-myometrial interface: Relationship to adenomyosis and changes in pregnancy," *Obstet Gynecol Surv*, vol. 55, no. 6, pp. 390–400, Jun. 2000, doi: 10.1097/00006254-200006000-00025.
- [7] C. Ozturk, G. Askan, S. Duman Ozturk, O. Okcu, B. Sen, and R. Bedir, "High Tumor Infiltrating Lymphocytes Are Associated with Overall Survival and Good Prognostic Parameters in Endometrial Endometrioid Carcinoma Patients," *Turkish Journal of Pathology*, vol. 39, no. 1, p. 75, 2023, doi: 10.5146/TJPATH.2022.01596.

- [8] A. Camboni and E. Marbaix, "Ectopic endometrium: The pathologist's perspective," *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 20, Oct. 2021, doi: 10.3390/IJMS222010974.
- [9] X. F. Jiang *et al.*, "Tumor-associated macrophages correlate with progesterone receptor loss in endometrial endometrioid adenocarcinoma," *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, vol. 39, no. 4, pp. 855–863, Apr. 2013, doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.02036.x.
- [10] X. F. Jiang *et al.*, "Tumor-associated macrophages correlate with progesterone receptor loss in endometrial endometrioid adenocarcinoma," *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, vol. 39, no. 4, pp. 855–863, Apr. 2013, doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.02036.x.
- [11] A. Vanderstraeten, S. Tuyaerts, and F. Amant, "The immune system in the normal endometrium and implications for endometrial cancer development," *J Reprod Immunol*, vol. 109, pp. 7–16, Jun. 2015, doi: 10.1016/J.JRI.2014.12.006.
- [12] Y. Pan, Y. Yu, X. Wang, and T. Zhang, "Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity," *Front Immunol*, vol. 11, p. 583084, Dec. 2020, doi: 10.3389/FIMMU.2020.583084/BIBTEX.
- [13] X. Song, R. Na, N. Peng, W. Cao, and Y. Ke, "Exploring the role of macrophages in the progression from atypical hyperplasia to endometrial carcinoma through single-cell transcriptomics and bulk transcriptomics analysis," *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 14, 2023, doi: 10.3389/FENDO.2023.1198944.
- [14] A. Mantovani, F. Marchesi, A. Malesci, L. Laghi, and P. Allavena, "Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology," *Nat Rev Clin Oncol*, vol. 14, no. 7, pp. 399–416, Jul. 2017, doi: 10.1038/NRCLINONC.2016.217.
- [15] Á. López-Janeiro *et al.*, "The association between the tumor immune microenvironments and clinical outcome in low-grade, early-stage endometrial cancer patients," *J Pathol*, vol. 258, no. 4, pp. 426–436, Dec. 2022, doi: 10.1002/PATH.6012.

The Role of M1 and M2 Macrophages in the Progression of Endometrial Hyperplasia to Endometrioid Adenocarcinoma

Paata Zhorzholiani¹; Zaza Bokhua²; Shota Kepuladze³; Giorgi Burkadze⁴

¹PhD Student at Tbilisi State Medical University; ²Associate Professor at Tbilisi State Medical University Department of Obstetrics-Gynecology and Reproductive Health; ³Anatomical and Clinical Pathologist at Tbilisi State Medical University; PhD; ⁴Professor at Tbilisi State Medical University, Head of the Department of Molecular pathology; Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5028-4537>

Abstract

Background: The progression of endometrial pathologies, from benign hyperplasia to malignant adenocarcinoma, involves complex interactions between the immune microenvironment, hormonal receptor dynamics, and systemic conditions. This study aims to evaluate immune markers, such as M1/M2 macrophage ratios and tumour-infiltrating lymphocytes (TILs), alongside estrogen (ER) and progesterone (PR) receptor expression in different endometrial conditions.

Methods: This retrospective study included 120 cases categorised into three groups: endometrial hyperplasia without atypia, hyperplasia with atypia, and endometrial endometrioid adenocarcinoma. Immune markers (M1/M2 ratio, TILs) and hormonal receptors (ER, PR) were assessed using immunohistochemistry. Statistical comparisons were conducted across diagnostic groups stratified by age and systemic conditions.

Results: The M1/M2 Ratio declined progressively from hyperplasia without atypia (mean: 2.0) to adenocarcinoma (mean: 0.5, $p < 0.01$), indicating a shift from a pro-inflammatory to an immunosuppressive microenvironment. TILs %: Minimal in hyperplasia without atypia (0%), increasing significantly in adenocarcinoma (mean: 15%, $p < 0.01$). ER/PR expression decreased from hyperplasia without atypia (ER: 80%, PR: 70%) to adenocarcinoma (ER: 30%, PR: 20%, $p < 0.01$). Premenopausal women exhibited higher receptor expression than postmenopausal women ($p < 0.05$).

Conclusion: This study demonstrates the critical role of immune and hormonal markers in the progression of endometrial diseases. The decline in M1/M2 ratios, rising TILs, and reduced ER/PR expression correlate with disease severity and systemic conditions. These findings suggest the potential of targeting the immune microenvironment and hormonal pathways for personalised therapeutic strategies. Future research should explore the molecular mechanisms underlying these changes and validate these biomarkers in prospective studies.

Keywords: Endometrial Cancer; Endometrial Hyperplasia; Immune Microenvironment; Macrophage Polarization; M1/M2 Ratio; Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs);