



FOXP3+ ექსპრესიის თავისებურებები ენდომეტრიუმის სიმსივნისწინარე და სიმსივნურ დაზიანებებში: იმუნური მიკროგარემოს დინამიკის შედარებითი კვლევა

პაატა ჟორჟოლიანი¹; ზაზაბოხუა²; შოთა კეპულაძე³; გიორგი ბურკაძე⁴
თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

ენდომეტრიუმის კარცინომა არის ქალთა პოპულაციაში კიბოსთან დაკავშირებული სიკვდილიანობის წამყვანი მიზეზი, სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ქვეტიპები, როგორცაა ენდომეტროიდული და სეროზული კარცინომა, ავლენს განსხვავებულ კლინიკურ ქცევას. მარეგულირებელი T უჯრედები (Tregs), რომლებიც აღინიშნება FOXP3 ექსპრესიით, ცნობილია, რომ გადამწყვეტ როლს ასრულებს სიმსივნის მიკროგარემოს იმუნურ მოდულაციაში. პროგრამირებული უჯრედის სიკვდილის ლიგანდი 1 (PDL1) არის კიდევ ერთი საკვანძო იმუნური გამშვები პუნქტის მოლეკულა, რომელიც სხვადასხვა ავთვისებიან სიმსივნეში დაკავშირებულია იმუნური სისტემისაგან სიმსივნური უჯრედების თავის არიდებასთან. ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენს გამოვავლინოთ FOXP3 და PDL1-ის ექსპრესიის თავისებურებები ენდომეტრიუმის კეთილთვისებიან და ავთვისებიან დაზიანებებში. კვლევაში ჩართული იყო ჯამში 150 შემთხვევა. FOXP3 და PDL1 ექსპრესია შეფასდა იმუნოჰისტოქიმიის გამოყენებით და ჩატარდა სტატისტიკური ანალიზი ამ მარკერებსა და კლინიკო-პათოლოგიურ მახასიათებლებს შორის კორელაციის შესაფასებლად, როგორცაა ასაკი, სიმსივნის სტადია და ჰისტოლოგიური ქვეტიპი.

კვლევამ აჩვენა, რომ FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ავთვისებიან დაზიანებებში (საშუალოდ 22-30%) კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიებთან შედარებით (საშუალოდ 5%). სეროზული კარცინომის შემთხვევებში გამოვლინდა ყველაზე მაღალი FOXP3 ექსპრესია (30%), რასაც მოჰყვა ენდომეტროიდული კარცინომა (22%). დაფიქსირდა დადებითი კორელაცია FOXP3 და PDL1 ექსპრესიას შორის (Spearman-ის კორელაციის კოეფიციენტი = 0.75, $p < 0.001$). გარდა ამისა, უფრო მაღალი FOXP3 და PDL1 ექსპრესია დაფიქსირდა მაღალი სტადიის სიმსივნეებში (pT2) ადრეულ სტადიის სიმსივნეებთან შედარებით (pT1). პოზიტიური კორელაცია FOXP3 და PDL1 ექსპრესიას შორის მიუთითებს იმუნური აცილების პოტენციურ მექანიზმზე და მხარს უჭერს იმუნური გამშვები პუნქტის ინჰიბიტორების გამოყენებას, როგორც თერაპიულ სტრატეგიას ენდომეტრიუმის კარცინომის შემთხვევებში.

საკვანძო სიტყვები: FOXP3; PDL1; ენდომეტრიუმის კარცინომა; სეროზული კარცინომა;

შესავალი

ენდომეტრიუმის პათოლოგიები, დაწყებული კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიიდან უაღრესად აგრესიულ კარცინომის ჰისტოლოგიურ ტიპამდე, წარმოადგენს გინეკოლოგიური დაავადებების მეტად მნიშვნელოვან და მრავალფეროვან სპექტრს.[1] ეს დაზიანებები ავლენს ჰისტოპათოლოგიური, ჰორმონური და იმუნოლოგიური ჰეტეროგენურობის სხვადასხვა ხარისხს. გლობალურად, ენდომეტრიუმის კარცინომა მეექვსე ყველაზე გავრცელებული კიბოა ქალთა პოპულაციაში, რაც წარმოადგენს 2020 წლის მონაცემებით ყოველწლიურად დაახლოებით 417,000 ახალ შემთხვევას 97,000 ლეტალური გამოსავლით. ყოველწლიურად აღინიშნება სიხშირის ზრდის ტენდენცია, განსაკუთრებით განვითარებულ ქვეყნებში, სიმსუქნის მაჩვენებლისა და სხვა ცხოვრების სტილის ფაქტორების გამო.[2]

მიუხედავად იმისა, რომ ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია ატიპიის გარეშე ხშირად კეთილთვისებიანია და ასოცირდება პროგრესირების დაბალ რისკთან (5%-ზე ნაკლები), ჰიპერპლაზია ატიპიით მნიშვნელოვნად მაღალი რისკის შემცველია, მკურნალობის გარეშე შემთხვევების 30%-მდე პროგრესირებს. ენდომეტროიდული ადენოკარცინომა წარმოადგენს ყველა ენდომეტრიუმის კარცინომას 80-85%-ს და როგორც წესი, მგრძობიარეა ჰორმონული თერაპიის მიმართ, მაშინ როდესაც სეროზული კარცინომა წარმოადგენს იშვიათ, მაგრამ ძალზე აგრესიულ ვარიანტს, რომელიც დაკავშირებულია ცუდ პროგნოზთან და ადრეულ მეტასტაზებთან, შეადგენს შემთხვევების 10%-ზე ნაკლებს. [3], [4]

იმუნური მიკროგარემო გადამწყვეტ როლს ასრულებს ენდომეტრიუმის დაზიანებების პროგრესირების მოდულაციაში. როდესაც დაზიანებები ჰიპერპლაზიიდან კარცინომამდე პროგრესირებს იმუნური პასუხი განიცდის სხვადასხვა სახის ცვლილებას. მარეგულირებელი T უჯრედები (Tregs), რომლებიც ხასიათდება ტრანსკრიფციის ფაქტორი FOXP3-ის (Forkhead Box P3) ექსპრესიით, ამ იმუნური მოდულაციისთვის კრიტიკურად მნიშვნელოვანია. Tregs თრგუნავს იმუნურ პასუხს, ხელს უწყობს იმუნურ ტოლერანტობას და საშუალებას აძლევს სიმსივნურ უჯრედებს თავი აარიდონ იმუნურ მეთვალყურეობას. Tregs-ის მომატებული რაოდენობა ქსოვილებში ხშირად ასოცირებულია კიბოსწინარე მდგომარეობებთან და ადრეული სტადიის კიბოსთან. თუმცა, მაღალმა ექსპრესიამ კიბოს ადრეულ შემთხვევებში შეიძლება ხელი შეუწყოს სიმსივნის პროგრესირებას სიმსივნის საწინააღმდეგო იმუნური პასუხის შემცირებით. [4], [5]

FOXP3 არის კრიტიკული ტრანსკრიფციის ფაქტორი, რომელიც მართავს Tregs-ის განვითარებას, შენარჩუნებას და დამთრგუნველ ფუნქციებს. ეს უჯრედები ორმაგ როლს ასრულებენ: მიუხედავად იმისა, რომ ისინი აუცილებელია იმუნური ჰომეოსტაზის შესანარჩუნებლად და აუტოიმუნიტეტის პრევენციისთვის, გადაჭარბებულმა ექსპრესიამ სიმსივნის მიკროგარემოში შეიძლება ხელი შეუწყოს იმუნური სისტემიდან თავის აცილებას. FOXP3+ Tregs ხშირად გამდიდრებულია სხვადასხვა კიბოს სიმსივნური სტრომა, მათ შორის ენდომეტრიუმის კარცინომა. მათ სიმკვრივესა და ფუნქციურ სტატუსს შეუძლია უზრუნველყოს სიმსივნის მიკროგარემოს იმუნური დინამიკის შესახებ მნიშვნელოვანი ინფორმაცია.[6]

ენდომეტრიუმის პათოლოგიებზე დიდ გავლენას ახდენს ჰორმონური სიგნალები, განსაკუთრებით ესტროგენი (ER) და პროგესტერონი (PR). ეს ჰორმონები არეგულირებენ უჯრედების პროლიფერაციას და დიფერენციაციას ენდომეტრიუმში და ურთიერთქმედებენ მიკროგარემოს იმუნურ უჯრედებთან. ER და PR სიგნალის გადაცემამ შეიძლება ირიბად გავლენა მოახდინოს FOXP3+ Tregs-ზე, შექმნას იმუნოსუპრესიული გარემო, რომელიც ხელს უწყობს სიმსივნის ზრდას.

FOXP3 ექსპრესიის ER/PR სტატუსთან დაკავშირება უნიკალურ შესაძლებლობას იძლევა გამოვიკვლიოთ ენდომეტრიუმის დაზიანებებში ჰორმონურ და იმუნურ გზებს შორის ურთიერთქმედება. [7]

პროგრამირებული სიკვდილის-ლიგანდი 1 (PD-L1) არის იმუნური გამშვები პუნქტის მთავარი მოლეკულა, რომელიც ურთიერთქმედებს PD-1 რეცეპტორთან T უჯრედებზე, რაც იწვევს T-უჯრედების განლევას და იმუნური სისტემისაგან გაქცევას. გაზრდილი PD-L1 ექსპრესია ხშირად შეინიშნება მაღალი სტადიის კიბოს დროს და ასოცირდება იმუნოსუპრესიულ მიკროგარემოსთან. FOXP3+ Tregs და PD-L1 ხშირად თანაარსებობენ სიმსივნეებში, რაც სინერგიულად აქვეითებს იმუნურ პასუხს. ენდომეტრიუმის დაზიანებებში ამ მარკერების ერთდროული ექსპრესიის გამოკვლევამ შეიძლება მოგვაწოდოს იმუნური აცილების მექანიზმებზე დამატებითი ინფორმაცია, რაც დაავადების პროგრესირების საფუძველია. [7]

მიუხედავად FOXP3+ Tregs-ისა და PD-L1-ის ვრცელი კვლევისა სხვადასხვა სიმსივნეებში, მათი როლი ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიასა და კარცინომაში ჯერ კიდევ არ არის შესწავლილი. პროგრესირება ჰიპერპლაზიიდან კარცინომამდე წარმოადგენს კრიტიკულ ფანჯარას იმუნური დისრეგულაციის სიღრმისეულად გასაგებად.

კვლევის მასალა და მეთოდები

ჩვენი კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტული დიზაინის მქონე კვლევას, რომელიც ანალიზობს ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიის, ატიპიური ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიისა და ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდული და სეროზული 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 ოთხ განსხვავებულ ჯგუფს: ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია - 40 შემთხვევა; ენდომეტრიუმის ატიპიური ჰიპერპლაზია - 40 შემთხვევა; ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომა - 40 შემთხვევა; ენდომეტრიუმის სეროზული ადენოკარცინომა - 30 შემთხვევა;

კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმები: ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზიის, ატიპიური ჰიპერპლაზიის, ენდომეტრიოიდული ან სეროზული ადენოკარცინომის/კარცინომის 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, პარაფინში 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 FOXP3 (abcam) და PDL1 (Leica PD-L1 Clone: 73-10 Assay) 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 ხელსაწყოს დახმარებით 20 წუთის განმავლობაში.

ენდოგენური პეროქსიდაზას აქტივობა დაიბლოკა ინკუბაციით 3% წყალბადის ზეჟანგით 10 წუთის განმავლობაში. ანათლები ინკუბირებული იყო 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 (პლაცენტა - PDL1-ის ექსპრესიის კონტროლი);

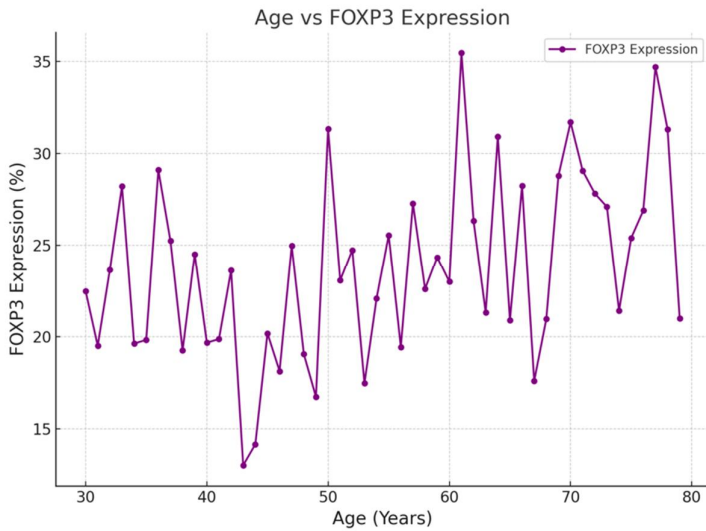
შედეგები

ჩვენი კვლევის ფარგლებში შესწავლილია 150 შემთხვევა, რომელიც მოიცავდა ენდომეტრიუმის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის 80 შემთხვევას და ენდომეტრიუმის ავთვისებიანი დაზიანების 70 შემთხვევას, მათ შორის ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდულ ადენოკარცინომისა და ენდომეტრიუმის სეროზულ კარცინომას. დაფიქსირდა შემდეგი შედეგები.

ასაკობრივი განაწილება: პრემენოპაუზური ქალების საშუალო ასაკი იყო 34.5 წელი (n=65), ხოლო პოსტმენოპაუზური ქალების საშუალო ასაკი იყო 61.2 წელი (n=85). პოსტმენოპაუზის

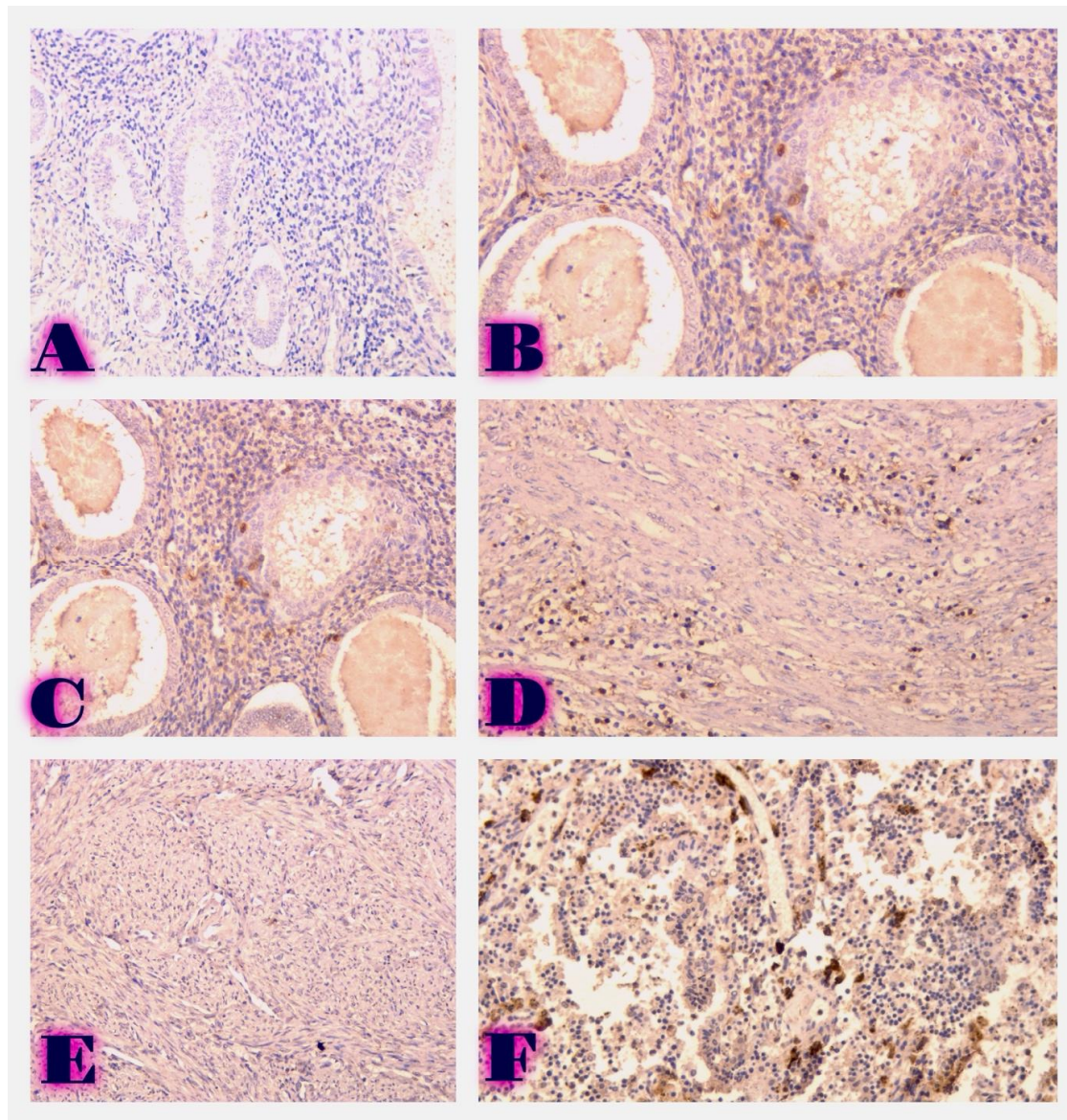
ჯგუფს შორის 70%-ს აღნიშნებოდა ავთვისებიანი დაზიანებები (ძირითადად ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომა და სეროზული კარცინომა), ხოლო 30%-ს ჰქონდა კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია. პრემენოპაუზის ჯგუფში 85%-ს აღნიშნებოდა კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია და 15%-ს ჰქონდა ავთვისებიანი დაზიანებები.

FOXP3 ექსპრესია ასაკის მიხედვით: FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო პოსტმენოპაუზურ ქალებში (საშუალოდ 25%) პრემენოპაუზურ ქალებთან შედარებით (საშუალოდ 18%) ($p < 0.05$). მონაცემები მიუთითებს ასაკთან ერთად იმუნური რეგულაციის ცვლილებაზე, რაც პოტენციურად ხელს უწყობს ავთვისებიანი სიმსივნეების იმუნურ მიკროგარემოს.

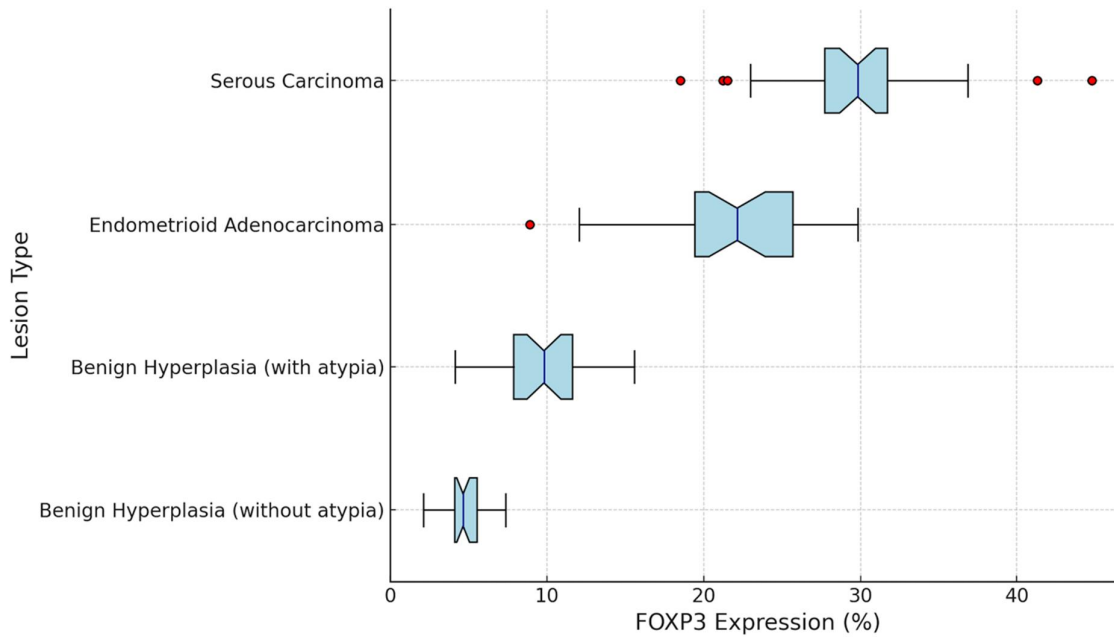


დიაგრამა 3: FOXP3-ის ექსპრესიის განაწილება ასაკობრივ ჯგუფებში;

კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიები (ატიპიით და მის გარეშე) შედარებული იყო ავთვისებიან დაზიანებებთან (ენდომეტრიოიდული და სეროზული კარცინომის ქვეტიპები): კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიები (როგორც ატიპიით, ასევე მის გარეშე) აჩვენებდნენ მნიშვნელოვნად მაღალ ხარისხის ექსპრესიას (საშუალოდ 5%) ავთვისებიან დაზიანებებთან შედარებით (ენდომეტრიოიდული და სეროზული კარცინომა), რომლებსაც ჰქონდათ საშუალო ხარისხის ექსპრესია 22% ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომისთვის და 30% სეროზული კარცინომა ($p < 0.001$). ეს ხაზს უსვამს FOXP3-დადებითი Tregs-ის იმუნურ მარეგულირებელ როლს ავთვისებიან სიმსივნეებში.



სურათი 2. A. FOXP3 მინიმალური ექსპრესია, ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია ატიპიის გარეშე, IHC, 400X; B. FOXP3 მაღალი ხარისხის ექსპრესია ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია ატიპიის გარეშე, IHC, 400X; C. FOXP3 დაბალი ხარისხის ექსპრესია ენდომეტრიუმის ჰიპერპლაზია ატიპიით, IHC, 400X; D. FOXP3 მაღალი ხარისხის ექსპრესია ენდომეტრიუმის ენდომეტროიდული ადენოკარცინომა ინვაზიური უბანი IHC, 400X; E. FOXP3 დაბალი ხარისხის ექსპრესია ენდომეტრიუმის ენდომეტროიდული ადენოკარცინომა ინვაზიური უბანი IHC; 400X; F. FOXP3 მაღალი ხარისხის ექსპრესია ენდომეტრიუმის სეროზული კარცინომა IHC; 400X;



დიაგრამა 4: FOXP3-ის ექსპრესიის განაწილება სხვადასხვა ენდომეტრიუმის შესწავლილ შემთხვევებში;

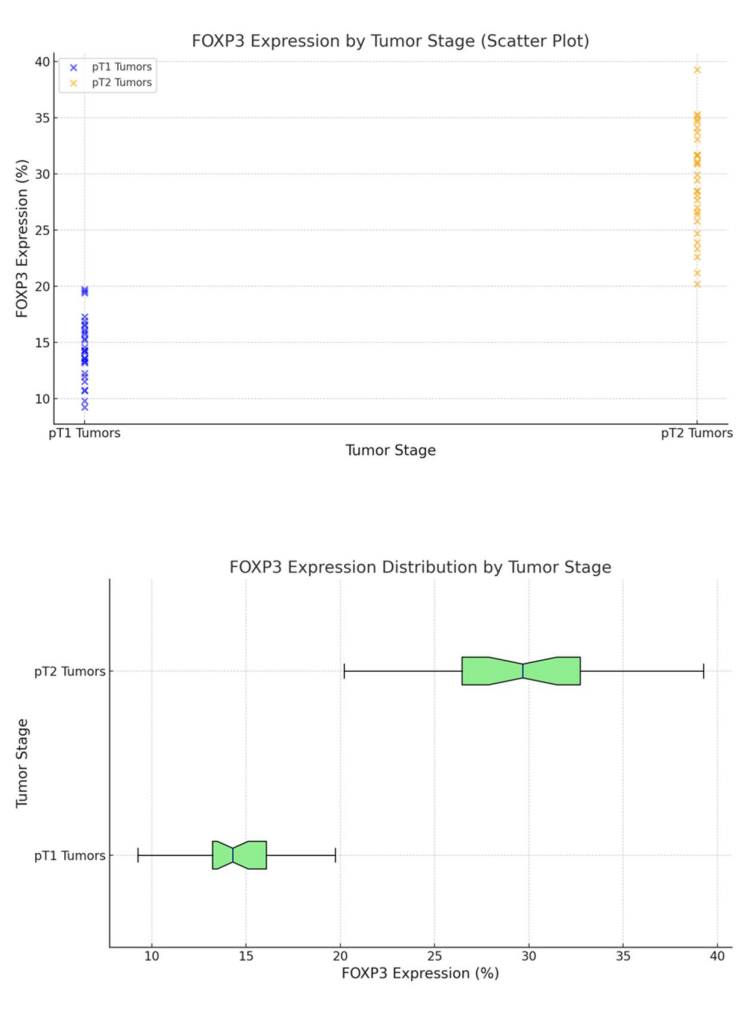
PDL1 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ავთვისებიან სიმსივნეებში კეთილთვისებიან დაზიანებებთან შედარებით. ენდომეტრიოიდულმა ადენოკარცინომამ გამოავლინა PDL1 საშუალო ექსპრესია 6%, ხოლო სეროზული კარცინომამ აჩვენა უფრო მაღალი ხარისხის ექსპრესია- 12%. შედარებისთვის, კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიები აჩვენებდნენ დაბალი ხარისხის PDL1 ექსპრესიას (საშუალოდ 2%) ($p < 0.01$).

FOXP3 და PDL1 ექსპრესიის შედარება ენდომეტრიუმის ენდომეტრიოიდულ ადენოკარცინომასა და ენდომეტრიუმის სეროზულ კარცინომას შორის: FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო სეროზულ კარცინომაში (საშუალოდ 30%) ენდომეტრიოიდულ ადენოკარცინომასთან შედარებით (საშუალოდ 22%) ($p < 0.01$). ამის საფუძველზე შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ სეროზულ კარცინომას, რომელიც უფრო აგრესიულია, შეიძლება ჰქონდეს იმუნური დათრგუნვის უფრო მაღალი დონე, რაც ხელს უწყობს მის უფრო აგრესიულ კლინიკურ ქცევას.

PDL1 ექსპრესია უფრო მაღალი იყო სეროზულ კარცინომაში (საშუალოდ 12%) ენდომეტრიოიდულ ადენოკარცინომასთან შედარებით (საშუალოდ 6%) ($p < 0.05$). ეს აძლიერებს იმ აზრს, რომ იმუნური სისტემისაგან თავის არიდების მექანიზმები კრიტიკულად უფრო მნიშვნელოვანია სეროზულ კარცინომაში, რაც ხელს უწყობს მის ქცევას და ცუდ პროგნოზს.

FOXP3 ექსპრესია სიმსივნის სტადიის მიხედვით: FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო მაღალი სტადიის სიმსივნეებში (pT2) საწყისი სტადიის სიმსივნეებთან შედარებით (pT1). FOXP3-ის საშუალო ექსპრესია pT1 სიმსივნეებში იყო 15%, ხოლო pT2 სიმსივნეებში გაიზარდა

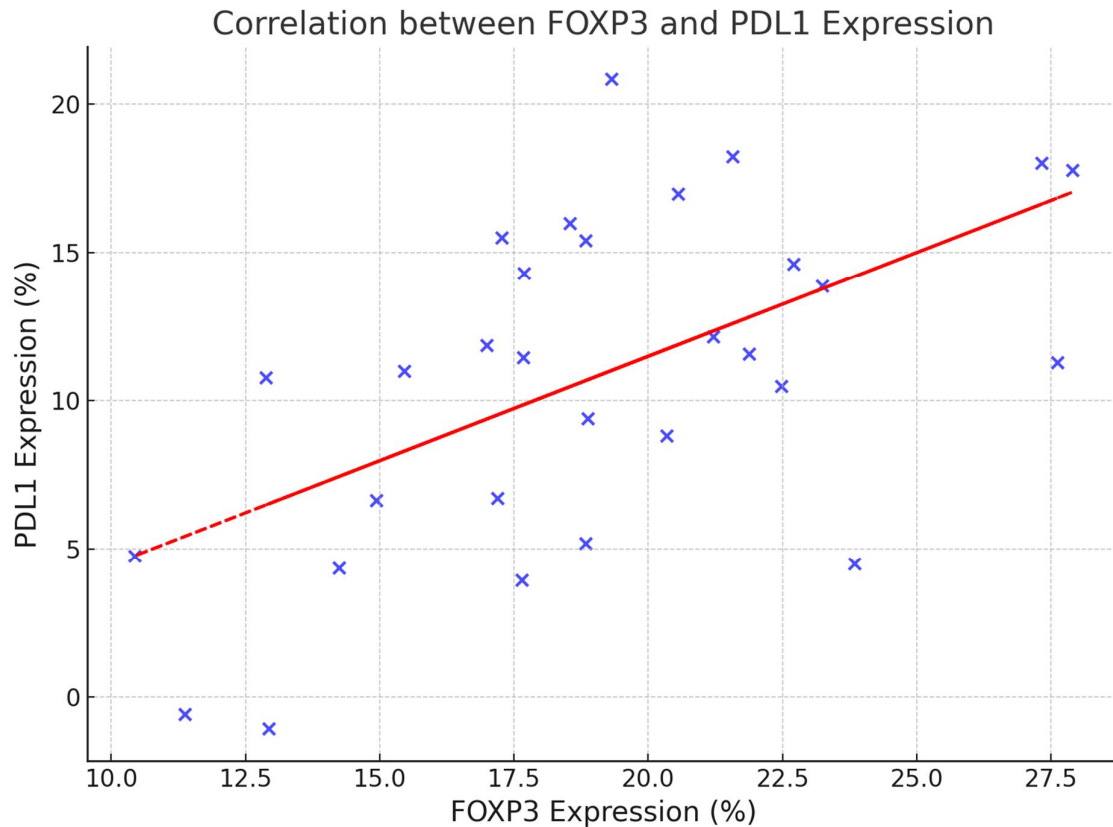
30%-მდე ($p < 0.05$). მარეგულირებელი T უჯრედები სიმსივნის პროგრესირების შემდგომ ეტაპებზე უფრო აქტიურად ექსპრესირებს.



დიაგრამა 5: FOXP3-ის ექსპრესიის განაწილება ავთვისებიან სიმსივნეთა სტადიების მიხედვით;

PDL1 ექსპრესია სიმსივნის სტადიის მიხედვით: FOXP3-ის მსგავსად, PDL1 ექსპრესია უფრო მაღალი იყო pT2 სიმსივნეებში (საშუალოდ 12%) pT1 სიმსივნეებთან შედარებით (საშუალოდ 5%) ($p < 0.01$). ეს მიუთითებს იმაზე, რომ იმუნური აცილების მექანიზმი PDL1 რეგულაციის საშუალებით უფრო მნიშვნელოვანია მაღალი სტადიის სიმსივნეებში.

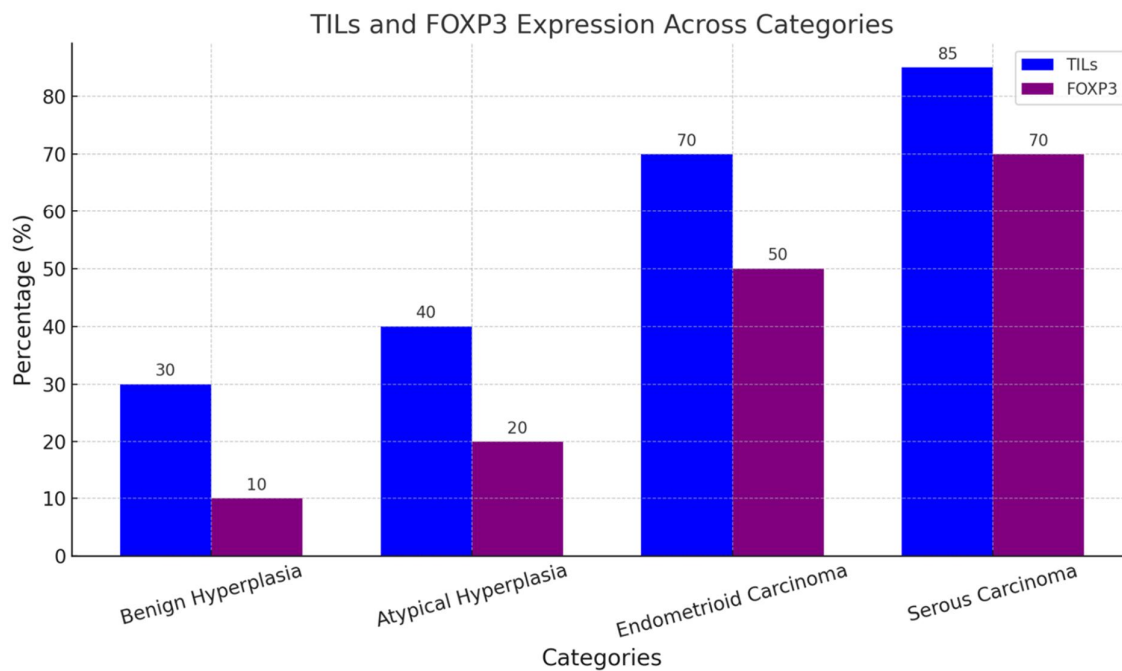
FOXP3-სა და PDL1-ს შორის გამოვლინდა ძლიერი დადებითი კორელაცია სიმსივნის ყველა სტადიაზე, სპირმანის კორელაციის კოეფიციენტით 0,75 ($p < 0,001$). ეს მიუთითებს პოტენციურ ურთიერთკავშირზე იმუნურ მოდულაციას (FOXP3-ის მეშვეობით) და იმუნურ აცილებას (PDL1-ის მეშვეობით) შორის სიმსივნის მიკროგარემოში.



დიაგრამა 6: დიაგრამა ასახავს კორელაციას FOXP3 და PDL1 ექსპრესიას შორის, წითელი წყვეტილი ხაზით, რომელიც მიუთითებს დადებით კორელაციაზე ორ მარკერს შორის.

სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტების (TILs) პროცენტული შემცველობა მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ავთვისებიან სიმსივნეებში კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიასთან შედარებით.

ურთიერთობა TIL-სა და FOXP3 ექსპრესიას შორის: კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიების შემთხვევებს ჰქონდა TIL-ის საშუალო პროცენტული მაჩვენებელი 10%, ხოლო ავთვისებიანი სიმსივნეები ჰქონდათ TIL-ის საშუალო პროცენტული მაჩვენებელი 25% ($p < 0.001$). დაფიქსირდა დადებითი კორელაცია FOXP3 ექსპრესიასა და TIL-ებს შორის. ავთვისებიანი სიმსივნეები TIL-ების უფრო მაღალი პროცენტით (განსაკუთრებით სეროზული კარცინომა) აჩვენებდნენ უფრო მაღალ FOXP3 ექსპრესიას, რის საფუძველზეც შევიძლია ვივარაუდოთ, რომ TIL-ების არსებობა ხელს უწყობს იმუნურ მარეგულირებელ გარემოს Tregs-ის მეშვეობით.



დიაგრამა 7: TILs და FOXP3-ის განაწილება ენდომეტრიუმის შესწავლილ სხვადასხვა ნოზოლოგიურ ერთეულში;

განსჯა

ენდომეტრიუმის კარცინომაში FOXP3 ფართოდ არის აღიარებული, როგორც მარეგულირებელი T უჯრედების (Tregs) ძირითადი მარკერი, რომლებიც გადამწყვეტ როლს თამაშობს სიმსივნის მიკროგარემოში იმუნური სისტემის დათრგუნვაში. ჩვენი კვლევა აჩვენებს, რომ FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალია ენდომეტრიუმის ავთვისებიან სიმსივნეებში, მათ შორის ენდომეტრიოიდულ და სეროზულ კარცინომაში, კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიებთან შედარებით. ეს დასკვნა შეესაბამება სხვა კიბოს კვლევებს, როგორცაა ძუძუსა და მსხვილი ნაწლავის კიბო, სადაც FOXP3-დადებითი Tregs-ის გაზრდა დაკავშირებულია ცუდ პროგნოზთან და იმუნური ზედამხედველობიდან თავის არიდებასთან (Zhou et al., 2019; Filaci et al., 2007) [8]. სეროზულმა კარცინომამ აჩვენა ყველაზე მაღალი FOXP3 ექსპრესია (30%), რაც შეესაბამება მის აგრესიულ კლინიკურ ქცევას და ცუდი პროგნოზს (Stewart et al., 2018). [9]Tregs-ის გაზრდილმა მაჩვენებელმა შეიძლება შექმნას იმუნოსუპრესიული მიკროგარემო, რომელიც აფერხებს ეფექტურ სიმსივნის საწინააღმდეგო იმუნიტეტს და ხელს უწყობს კიბოს პროგრესირებას. მსგავსმა კვლევებმა აჩვენა, რომ მაღალი FOXP3 ექსპრესია ასოცირდება სიმსივნის პროგრესირებასთან და მეტასტაზებთან სხვადასხვა ავთვისებიან სიმსივნეებში (Sakaguchi et al., 2008)[10]. ჩვენმა კვლევამ ასევე აჩვენა, რომ FOXP3 ექსპრესია უფრო მაღალი იყო პოსტმენოპაუზურ ქალებში, იმუნური ფუნქცია, როგორც წესი, ასაკთან ერთად ნაკლებად ეფექტური ხდება, რამაც შეიძლება კიდევ უფრო შეუწყოს ხელი ავთვისებიანი სიმსივნეების ზრდას (Fu et al., 2020).[11]

იმუნური აცილების მექანიზმი ჩვენს კვლევაში FOXP3 და PDL1 ექსპრესიის სარწმუნო კორელაცია ძალზე მნიშვნელოვანია ენდომეტრიუმის კიბოს იმუნური აცილების მექანიზმების გასაგებად. ჩვენი დასკვნები, რომ PDL1 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო სეროზულ კარცინომაში (12%) ენდომეტრიოიდულ კარცინომასთან (6%) და კეთილთვისებიანი დაზიანებებთან შედარებით (2%), შეესაბამება იმ კვლევის შედეგებს, რომლებშიც PDL1-ის რეგულაცია დაკავშირებულია უფრო აგრესიულ კიბოს ფენოტიპებთან და მკურნალობაზე რეზისტენტობასთან (Topalian et al., 2015).[12] გარდა ამისა, დადებითი კორელაცია FOXP3 და PDL1 ექსპრესიას შორის (Spearman-ის კორელაციის კოეფიციენტი = 0.75, $p < 0.001$) მიგვანიშნებს, რომ Tregs (FOXP3-დადებითი) ქმნის იმუნური აცილების ორმაგ მექანიზმს, რაც შეიძლება იყოს განსაკუთრებით კრიტიკული მაღალი სტადიის სიმსივნეებში, სადაც გაძლიერებულია როგორც იმუნური რეგულაცია, ასევე იმუნური ზედამხედველობისაგან თავის აცილების მექანიზმები.

მსგავსი კორელაციები FOXP3-სა და PDL1-ს შორის იქნა ნაპოვნი სხვა ორგანოთა სისტემების შესწავლილ კიბოებში, როგორცაა ფილტვის არაწვრილუჯრედოვანი კიბო და მელანომა, სადაც ორივე მარკერის მაღალი ექსპრესია დაკავშირებულია ცუდ კლინიკურ შედეგებთან (Gomez et al., 2019). [13]

ენდომეტრიოიდული ადენოკარცინომის შემთხვევებმა გამოავლინა შედარებით დაბალი FOXP3 და PDL1 ექსპრესია, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ იმუნური სუპრესია შეიძლება ნაკლები იყოს ამ სიმსივნეებში. ჰისტოლოგიურ ქვეტიპებს შორის იმუნური მოდულაციის ამ განსხვავებამ შეიძლება გავლენა მოახდინოს დაავადების პროგრესირებაზე. ენდომეტრიუმის სეროზული კარცინომის მქონე პაციენტებმა შეიძლება ისარგებლოს დამიზნებითი თერაპიებით, რომლებიც მიმართულია იმუნური გამშვები პუნქტის ბლოკადაზე, ხოლო ენდომეტრიოიდულ კარცინომა შეიძლება განსხვავებულად რეაგირებდეს.

ჩვენი კვლევის საფუძველზე გამოვლინდა, რომ FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო მაღალი სტადიის სიმსივნეებში (pT2) საწყისი სტადიის სიმსივნეებთან შედარებით (pT1) ($p < 0.05$). სხვა ორგანოთა სისტემების კიბოზე ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ FOXP3-ის მაღალი დონე ასოცირდება ცუდ პროგნოზთან და დაავადების მაღალ სტადიებთან (Nishikawa et al., 2008).[14] ენდომეტრიუმის კიბოს დროს, გვიანი სტადიის სიმსივნეებში Tregs-ის გაზრდილმა არსებობამ შეიძლება შეაფერხოს იმუნური პასუხი, ხელი შეუწყოს სიმსივნის ზრდას და მეტასტაზირებას.

დასკვნა

ჩვენი კვლევა ხაზს უსვამს FOXP3-დადებითი T-რეგულატორებისა და PDL1 ექსპრესიის მნიშვნელოვან როლს ენდომეტრიუმის კარცინომის იმუნურ მიკროგარემოში. კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ავთვისებიან დაზიანებებში კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიებთან შედარებით, ყველაზე მაღალი ექსპრესია დაფიქსირდა სეროზულ კარცინომაში. გარდა ამისა, FOXP3 და PDL1 ექსპრესიას შორის დადებითი კორელაციის საფუძველზე შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ იმუნური აცილება

ენდომეტრიუმის კარცინომაში შეიძლება მოიცავდეს, როგორც იმუნურ მოდულაციას Tregs-ის მეშვეობით, ასევე იმუნური გამშვები პუნქტის გააქტიურებას PDL1-ის მეშვეობით.

T-რეგულატორები და PDL1 ხელს უწყობს ენდომეტრიუმის ავთვისებიანი სიმსივნეების იმუნოსუპრესიულ გარემოს, განსაკუთრებით მაღალ სტადიებში და უფრო აგრესიული სეროზული კარცინომის ქვეტიპში. გარდა ამისა, FOXP3 და PDL1 შეიძლება იყოს პოტენციური ბიომარკერი პროგნოზისა და მკურნალობის პასუხისთვის, განსაკუთრებით იმუნოთერაპიის სტრატეგიებში.

ჩვენი კვლევა ხაზს უსვამს ენდომეტრიუმის კარცინომის იმუნური მიკროგარემოს სიღრმისეული შესწავლის მნიშვნელობას, განსაკუთრებით მარეგულირებელი T უჯრედებისა და იმუნური გამშვები პუნქტების როლს სიმსივნის პროგრესირებისა და თერაპიაზე პასუხის ფორმირებაში. საჭიროა შემდგომი კვლევები ამ მიმართულებით თერაპიული პოტენციალის შესასწავლად, როგორც FOXP3, ასევე PDL1-ის მიმართ ენდომეტრიუმის კიბოს პაციენტებში, იმუნური მეთვალყურეობის აღდგენისა და კლინიკური შედეგების გაუმჯობესების მიზნით.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] 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.
- [2] P. Morice, A. Leary, C. Creutzberg, N. Abu-Rustum, and E. Darai, "Endometrial cancer," *The Lancet*, vol. 387, no. 10023, pp. 1094–1108, Mar. 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(15)00130-0.
- [3] C. Casas-Arozamena and M. Abal, "Endometrial Tumour Microenvironment," *Adv Exp Med Biol*, vol. 1296, pp. 215–225, 2020, doi: 10.1007/978-3-030-59038-3_13.
- [4] G. D'Andrilli, A. Bovicelli, M. G. Paggi, and A. Giordano, "New insights in endometrial carcinogenesis," *J Cell Physiol*, vol. 227, no. 7, pp. 2842–2846, Jul. 2012, doi: 10.1002/jcp.24016.
- [5] A. Markowska, M. Pawałowska, J. Lubin, and J. Markowska, "Signalling pathways in endometrial cancer," *Wspolczesna Onkologia*, vol. 18, no. 3, pp. 143–148, 2014, doi: 10.5114/WO.2014.43154.
- [6] P. Zhorzholiani, Z. Bokhua, S. Kepuladze, and G. Burkadze, "The Role of M1 and M2 Macrophages in the Progression of Endometrial Hyperplasia to Endometrioid Adenocarcinoma," *ქართველი მეცნიერები*, vol. 7, no. 1, pp. 24–37, Jan. 2025, doi: 10.52340/gs.2025.07.01.04.
- [7] M. Arafat Hossain, "A comprehensive review of immune checkpoint inhibitors for cancer treatment," *Int Immunopharmacol*, vol. 143, no. Pt 2, Dec. 2024, doi: 10.1016/J.INTIMP.2024.113365.

- [8] Y. Wang and B. P. Zhou, "Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer progression and metastasis," *Chin J Cancer*, vol. 30, no. 9, p. 603, 2011, doi: 10.5732/CJC.011.10226.
- [9] L. Uroog, A. H. Rahmani, M. A. Alsahli, S. A. Almatroodi, R. A. Wani, and M. Moshahid Alam Rizvi, "Genetic Profile of FOXO3 Single-Nucleotide Polymorphism in Colorectal Cancer Patients," *Oncology (Switzerland)*, vol. 102, no. 4, pp. 299–309, Oct. 2023, doi: 10.1159/000533729/867502/GENETIC-PROFILE-OF-FOXO3-SINGLE-NUCLEOTIDE.
- [10] S. Sakaguchi, T. Yamaguchi, T. Nomura, and M. Ono, "Regulatory T cells and immune tolerance," *Cell*, vol. 133, no. 5, pp. 775–787, May 2008, doi: 10.1016/J.CELL.2008.05.009.
- [11] D. Tan, Y. Fu, W. Tong, and F. Li, "Prognostic significance of lymphocyte to monocyte ratio in colorectal cancer: A meta-analysis," *International Journal of Surgery*, vol. 55, pp. 128–138, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.IJSU.2018.05.030.
- [12] S. L. Topalian *et al.*, "Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer," *N Engl J Med*, vol. 366, no. 26, pp. 2443–2454, Jun. 2012, doi: 10.1056/NEJMOA1200690.
- [13] R. Saleh and E. Elkord, "FoxP3+ T regulatory cells in cancer: Prognostic biomarkers and therapeutic targets," *Cancer Lett*, vol. 490, pp. 174–185, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.CANLET.2020.07.022.
- [14] Y. Ohue and H. Nishikawa, "Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target?," *Cancer Sci*, vol. 110, no. 7, pp. 2080–2089, Jul. 2019, doi: 10.1111/CAS.14069.

Assessment of FOXP3+ Expression in Endometrial Precancerous and Neoplastic Lesions: A Comparative Study of Immune Microenvironment Dynamics

Paata Zhorzholiani; Zaza Bokhua; Shota Kepuladze; Giorgi Burkadze

Tbilisi State Medical University

Abstract

Background: Endometrial carcinoma is a leading cause of cancer-related mortality in women, with distinct subtypes such as endometrioid and serous carcinoma exhibiting varying clinical behaviours. Regulatory T cells (Tregs), marked by FOXP3 expression, play a crucial role in immune modulation within the tumour microenvironment. Programmed cell death ligand 1 (PDL1) is another key immune checkpoint molecule associated with immune evasion in various malignancies. This study investigates the expression of FOXP3 and PDL1 in benign and malignant endometrial lesions, comparing endometrial hyperplasias, endometrioid adenocarcinoma, and serous carcinoma.

Methods: 150 cases were analysed, including 80 benign hyperplasias (with and without atypia) and 70 malignant lesions (endometrioid and serous carcinoma). FOXP3 and PDL1 expression levels were assessed using immunohistochemistry, and statistical analyses were performed to evaluate the

correlation between these markers and clinicopathological features such as age, tumour stage, and histological subtype.

Results: FOXP3 expression was significantly higher in malignant lesions (mean 22-30%) compared to benign hyperplasias (mean 5%). Serous carcinoma exhibited the highest FOXP3 expression (30%), followed by endometrioid carcinoma (22%). PDL1 expression was also significantly higher in malignant tumours, with serous carcinoma showing a mean expression of 12% compared to 6% in endometrioid carcinoma. A positive correlation between FOXP3 and PDL1 expression was observed (Spearman's correlation coefficient = 0.75, $p < 0.001$). Additionally, higher FOXP3 and PDL1 expressions were observed in advanced-stage tumours (pT2) compared to early-stage tumours (pT1).

Conclusion: The study demonstrates that FOXP3-positive Tregs and PDL1 are significantly upregulated in malignant endometrial tumours, particularly in serous carcinoma, associated with a more aggressive clinical course. The positive correlation between FOXP3 and PDL1 expression suggests a potential mechanism of immune evasion and supports immune checkpoint inhibition as a therapeutic strategy in endometrial carcinoma.

Keywords: FOXP3; Tregs; PDL1; Endometrial carcinoma; Serous carcinoma;

ავტორთა შესახებ ინფორმაცია

პაატა ჯორჯოლიანი - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი;
Paata Zhorzholiani – PhD Student at Tbilisi State Medical University

Email: paatazhorzholiani00@gmail.com

Phone Number: +995593593434

ზაზა ბოხუა - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის მეანობა-გინეკოლოგიისა და რეპროდუქციული ჯანმრთელობის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი;

Zaza Bokhua – Associate Professor at Tbilisi State Medical University Department of Obstetrics-Gynecology and Reproductive Health;

Email: z.bokhua@tsmu.edu

შოთა კეპულაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგანატომი; მედიცინის აკადემიური დოქტორი;

Shota Kepuladze – Anatomical and Clinical Pathologist at Tbilisi State Medical University; PhD;

Email: Shota.kepuladze@gmail.com Sh.kepuladze@tsmu.edu

ტელეფონის ნომერი/Phone Number: +995558286170

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5919-5581>

გიორგი ბურკაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი, მოლეულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი;

George Burkadze - Professor at Tbilisi State Medical University, Head of the Department of Molecular pathology;

E-mail: burkadze@yahoo.com g.burkadze@tsmu.edu

ტელეფონის ნომერი/Phone Number: 599578833

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5028-4537>