

ეპითელურ-მეზენქიმული ტრანსფორმაციის მარკერების ექსპრესიის თავისებურებები საშვილოსნოს ყელის უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიის პროგრესირებაში

თამარ სვანაძე, შოთა კეპულაძე, გიორგი ბურკაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია (CIN) არის საშვილოსნოს ყელის კიბოს მთავარი წინამორბედი და მისი პროგრესირების მოლეკულური მექანიზმების გაგება გადამწყვეტია დიაგნოსტიკური და თერაპიული სტრატეგიების გასაუმჯობესებლად. უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია (IPSM) წარმოადგენს განსხვავებულ ჰისტოლოგიურ ერთეულს, რომელიც შესაძლოა პროგრესირებდეს CIN დაზიანებაში. ჩვენი კვლევა მიზნად ისახავდა ეპითელურ-მეზენქიმული ტრანსფორმაციის (EMT) მარკერების (ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი) და ჰორმონალური რეცეპტორების (ესტროგენის რეცეპტორები [ER] და პროგესტერონის რეცეპტორების [PR]) ექსპრესიის შესწავლას IPSM-ისა და CIN-ის სხვადასხვა სტადიაში. ჩვენს კვლევაში ჩართული იყო სულ 195 პაციენტი მწიფე ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიით, IPSM და CIN (CIN 1 და CIN 2). ჩატარდა იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა ვიმენტინის, ბეტა-კატენინის, E-კადჰერინის, ER და PR-ის ექსპრესიის შესაფასებლად. ასევე ნაწილ პაციენტებში კლინიკურად განსაზღვრული იყო HPV სტატუსი და გაანალიზდა კორელაცია მარკერის ექსპრესიასა და დაზიანების ჰისტოლოგიურ ხარისხს შორის. ჩვენმა კვლევამ აჩვენა HPV-დადებით შემთხვევებში HPV-უარყოფით შემთხვევებთან შედარებით EMT მარკერების უფრო მაღალი ხარისხის ექსპრესია და E-cadherin-ის უფრო გამოხატული დაკარგვა. გარდა ამისა, ER და PR ექსპრესია მნიშვნელოვნად შემცირდა მაღალი ხარისხის CIN დაზიანებებში.

ჩვენი კვლევის შედეგების საფუძველზე შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ EMT მარკერების ექსპრესიის მომატება და ჰორმონალური რეცეპტორების დაქვეითება გარკვეულ როლს თამაშობს CIN-ისა და IPSM პროგრესირებაში. ეს მარკერები, განსაკუთრებით ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი, შეიძლება იყოს ღირებული ბიომარკერი პროგრესირების რისკის სტრატეგიკაციისთვის საშვილოსნოს ყელის კიბოს პროფილაქტიკაში. დამატებითი კვლევებია საჭირო განსაკუთრებით HPV-დადებითი CIN დაზიანებების დროს ამ ბიომარკერების დამიზნებითი თერაპიული საშუალებების შემუშავებისათვის.

საკვანძო სიტყვები: ეპითელიურ-მეზენქიმური ტრანსფორმაცია; საშვილოსნოს ყელის უმწიფარი ბრტყელუჯრედოვანი პოლიპოიდური მეტაპლაზია; საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზია; HPV;

შესავალი

საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზია (CIN) წარმოადგენს საშვილოსნოს ყელის პრეინვაზიური დაზიანებების თანმიმდებრობას, დაწყებული დაბალი ხარისხის დისპლაზიიდან (CIN 1) მაღალი ხარისხის დისპლაზიამდე (CIN 3), რომელსაც აქვს საშვილოსნოს ყელის ინვაზიურ კიბოდ პროგრესირების გარკვეული პოტენციალი.[1] CIN უპირველეს ყოვლისა ასოცირდება მაღალი რისკის ადამიანის პაპილომავირუსის (HPV) მუდმივ ინფექციასთან, რომელიც იწვევს გენეტიკურ და ეპიგენეტიკურ ცვლილებებს საშვილოსნოს ყელის ეპითელიუმში. ეს ცვლილებები არღვევს ნორმალურ უჯრედულ პროცესებს, როგორიცაა პროლიფერაცია, დიფერენციაცია და აპოპტოზი, რაც საბოლოოდ იწვევს დისპლაზიას. მიუხედავად იმისა, რომ HPV ინფექცია რჩება მთავარ ეტიოლოგიურ ფაქტორად CIN-ის განვითარებაში, ბოლო კვლევები ვარაუდობენ, რომ სხვა უჯრედულმა და ქსოვილოვანმა ცვლილებებმა, მათ შორის მეტაპლაზიამ, ასევე შეიძლება წვლილი შეიტანოს CIN-ის პროგრესირებაში. უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია (IPSM) არის ერთ-ერთი ასეთი ცვლილება, რომელმაც ყურადღება მიიპყრო მისი პოტენციური როლის გამო CIN პროგრესირებაში [2].

უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია ხასიათდება საშვილოსნოს ყელში ბრტყელუჯრედოვანი უჯრედების აბნორმალური პროლიფერაციით, რაც იწვევს პოლიპოიდური, ეგზოფიტური სტრუქტურების წარმოქმნას, რომლებიც განსხვავდება ტიპური მომწიფებული ბრტყელი მეტაპლაზიისგან. ეს ჰისტოლოგიური ერთეული წარმოდგენილია უმწიფარი ბრტყელი უჯრედების არსებობით, რომლებსაც არ გააჩნიათ ტიპური დიფერენციაცია. ეს უჯრედები ხშირად ავლენენ უჯრედულ ატიპიას და მთლიან დეზორგანიზებულ ქსოვილოვან არქიტექტურას. ითვლება, რომ IPSM წარმოიქმნება ქრონიკული ანთების, ჰორმონური ცვლილებების ან მუდმივი HPV ინფექციის პასუხად. საშვილოსნოს ყელში ასეთი მეტაპლაზიური ცვლილებების არსებობა განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია, რადგან ის მიუთითებს შემდგომი ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის შესაძლებლობაზე, განსაკუთრებით სხვა ფაქტორებთან კომბინაციაში, როგორიცაა დისპლაზია ან მაღალი რისკის HPV ინფექცია.

IPSM-ის იდენტიფიკაცია აუცილებელია CIN-ის განვითარებასა და პროგრესირებაში მისი პოტენციური როლის გასაგებად. მიუხედავად იმისა, რომ მწიფე ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია განიხილება საშვილოსნოს ყელის ეპითელიუმის კეთილთვისებიან ცვლილებად, IPSM შეიძლება წარმოადგენდეს უფრო მაღალი ხარისხის დისპლაზიური დაზიანებებისკენ პროგრესიის შუალედურ სტადიას. ამიტომ, IPSM-ის მოლეკულური და ჰისტოლოგიური თავისებურებების შესწავლამ შეიძლება გამოავლინოს მექანიზმები, რომლებიც განაპირობებენ საშვილოსნოს ყელის კეთილთვისებიანიდან ავთვისებიან დაზიანებში გადასვლას.

იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) ანალიზი გადამწყვეტ როლს თამაშობს უჯრედულ დონეზე ამ ცვლილებების იდენტიფიცირებაში. სპეციფიკური მარკერების გამოყენებით შესაძლებელია IPST-ის დიფერენცირება სხვა მეტაპლაზიური ან დისპლაზიური დაზიანებებისგან და CIN პროგრესირების ძირითადი მექანიზმების შეფასება. [3], [4]

ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი გადამწყვეტია ეპითელიურ-მეზენქიმული ტრანსფორმაციის პროცესის გასაგებად, ფენომენი, რომელიც გადამწყვეტ როლს ასრულებს კიბოს მეტასტაზირებასა და პროგრესირებაში. ვიმენტინი, მეზენქიმული მარკერი, ხშირად ექსპრესირებულია EMT-ის დროს, რაც მიუთითებს ეპითელიური უჯრედების მოძრაობისა და ინვაზიურობის შეძენაზე. ვიმენტინის ექსპრესია დაკავშირებულია უფრო აგრესიულ სიმსივნის ფენოტიპთან და შეიძლება იყოს უჯრედული ტრანსფორმაციის ადრეული მაჩვენებელი კიბოსწინა დაზიანებებში. ბეტა-კატენინი, კადჰერინ-კატენინის კომპლექსის ცენტრალური კომპონენტი, მონაწილეობს უჯრედ-უჯრედული ადჰეზიის შენარჩუნებაში და უჯრედული სიგნალიზაციის რეგულირებაში. ბეტა-კატენინის დისრეგულაცია, განსაკუთრებით მისი ბირთვული ტრანსლოკაცია, ჩართული არის CIN-დან ინვაზიურ კიბომდე პროგრესირებაში. E-cadherin, უჯრედ-უჯრედის ადჰეზიის მოლეკულა, როგორც წესი, დაქვეითებულია EMT-ის დროს, რაც ხელს უწყობს ეპითელიუმის მთლიანობის დაკარგვას და უჯრედების განცალკევებას და შემდგომ მიგრაციას. E-კადჰერინის ექსპრესიის დაკარგვა არის EMT-ის დამახასიათებელი ნიშანი და ხშირად შეინიშნება ავთვისებიანი დაზიანებების, მათ შორის საშვილოსნოს ყელის კარცინომის დროს.[5], [6], [7]

CIN-ის კონტექსტში, EMT-ის გააქტიურებამ შეიძლება ხელი შეუწყოს პროგრესირებას დაბალი ხარისხის დაზიანებიდან (CIN 1) მაღალი ხარისხის დაზიანებამდე (CIN 2 და CIN 3) და საბოლოოდ ინვაზიურ კარცინომამდე. EMT-თან დაკავშირებულ მოლეკულურ მარკერებს, როგორიცაა ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი, შეუძლიათ მოგვაწოდონ მნიშვნელოვანი ინფორმაცია CIN დაზიანებების აგრესიულობისა და კიბოს პროგრესირების პოტენციალის შესახებ.[8]

სხვადასხვა კვლევებით ნაჩვენებია, რომ ესტროგენი და პროგესტერონი გავლენას ახდენენ EMT-თან დაკავშირებული მარკერების ექსპრესიაზე საშვილოსნოს ყელში. ესტროგენს, მისი რეცეპტორების შუამავლობით სიგნალის საშუალებით, შეუძლია ხელი შეუწყოს უჯრედების გამრავლებას და EMT-ის გააქტიურებას, ხოლო პროგესტერონი ეწინააღმდეგება ესტროგენის ეფექტებს. ესტროგენის რეცეპტორები (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორები (PR) ჩვეულებრივ ექსპრესირებულია საშვილოსნოს ყელის ეპითელიუმში და მათ გააქტიურებას შეუძლია საშვილოსნოს ყელის უჯრედების ქცევის მოდულირება. CIN-ის შემთხვევაში, EMT მარკერების ჰორმონულმა რეგულაციამ შეიძლება გავლენა მოახდინოს დაზიანებების განვითარებასა და პროგრესირებაზე, პოტენციურად შეცვალოს მათი რეაქცია მკურნალობაზე და გავლენა მოახდინოს ინვაზიურ კიბოზე პროგრესირების რისკზე. [9], [10]

უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია (IPST) წარმოადგენს მნიშვნელოვან ჰისტოპათოლოგიურ ერთეულს, რომელსაც შეუძლია წვლილი შეიტანოს CIN-ის პროგრესირებაში. IPST-ის ჰისტოლოგიური თავისებურებები, კომბინირებული

მოლეკულურ მარკერებთან, როგორცაა ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი, იძლევა ღირებულ შეხედულებებს საშვილოსნოს ყელის ნეოპლაზიის გამომწვევ პროცესებზე. CIN-ში EMT-ის გააქტიურებამ შეიძლება ხელი შეუწყოს დაბალი ხარისხის დაზიანებებიდან უფრო აგრესიულ და ინვაზიურ დაზიანებებზე გადასვლას, რაც შეიძლება გავლენა იქონიოს პაციენტის პროგნოზსა და მკურნალობაზე. ამ პროცესების ჰორმონური რეგულაცია კომპლექსურია, რადგან ესტროგენმა და პროგესტერონმა შეიძლება მოახდინოს EMT-ში ჩართული ძირითადი მარკერების ექსპრესიის მოდულირება. [11], [12]

მასალა და მეთოდები

ჩვენი კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტული დიზაინის მქონე კვლევას,

რომელიც ანალიზებდა საშვილოსნოს ყელის ნეოპლაზიური დაზიანებებისა და უმწიფარი ბრტყელუჯრედოვანი პოლიპოიდური მეტაპლაზიის 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. პაციენტები დაყოფილი იყო მათი ასაკის, ჰისტოლოგიური დიაგნოზისა და HPV სტატუსის მიხედვით, რაც დადასტურებულია კლინიკო-ლაბორატორიულად PCR ტესტირებით.

კვლევა მოიცავდა შემდეგ განსხვავებულ ჯგუფს: რეაქტიული საშვილოსნოს ყელი (საკონტროლო ჯგუფი); საშვილოსნოს ყელის მწიფე ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია; საშვილოსნოს ყელის უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია; CIN1; CIN2;

კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმები: 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 ER (Leica **clone:** 6F11); PR (Leica **clone:** 16); Vimentin (Leica **clone:** V9); Beta-cathenin (Leica **clone:** 17C2); E-cadherin (Leica **Clone:** 36B5); 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,

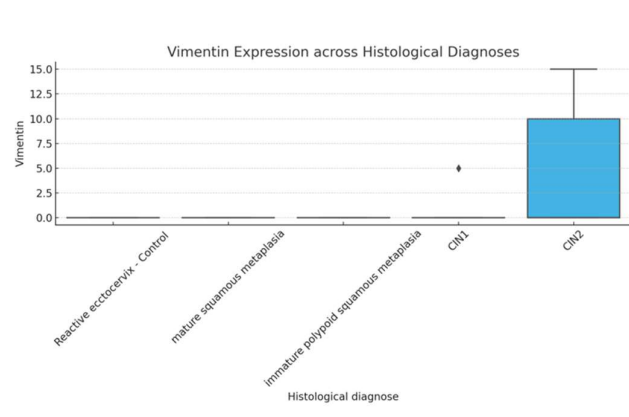
რომლებიც ცნობილია სამიზნე ანტიგენების ექსპრესიით;

კვლევა დამტკიცებულია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკის კომისიის მიერ.

შედეგები

კვლევა სრულად მოიცავდა 195 პაციენტის შემთხვევას პაციენტების ასაკობრივი დიაპაზონი იყო 25-დან 70 წლამდე (საშუალო ასაკი: 45 წელი). კოჰორტა დაყოფილი იყო ოთხ ჰისტოლოგიურ ჯგუფად: რეაქტიული ექტოცერვიქსი - საკონტროლო ($n = 20$), მწიფე ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია ($n = 45$), უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზია ($n=70$) და საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია (CIN) 1 და CIN 2 ($n = 60$). შემთხვევების 45% იყო HPV-დადებითი.

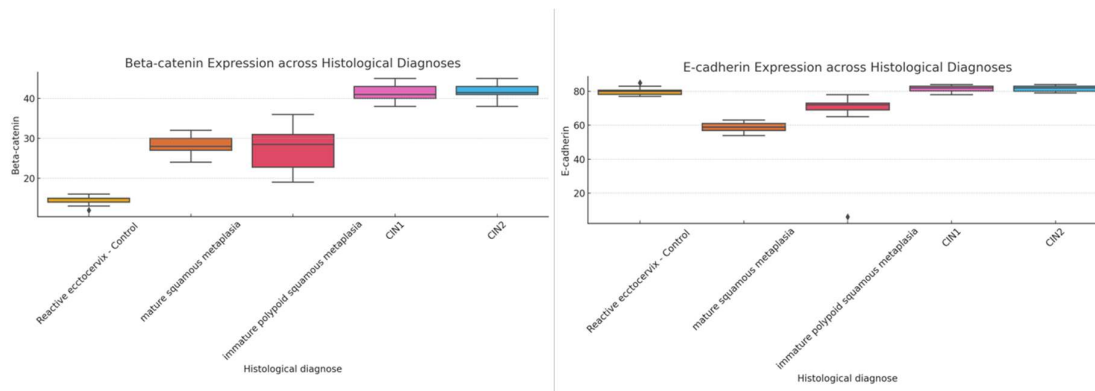
ვიმენტინის ექსპრესია გამოვლინდა სხვადასხვა ინტენსივობით. რეაქტიული ექტოცერვიქსი - საკონტროლო ჯგუფში ვიმენტინის ექსპრესია მინიმალური იყო, 0%. მწიფე ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიაში ვიმენტინის ექსპრესია აჩვენებდა სრულ ნეგატიურობას ან სუსტ შედეგს. თუმცა, უმწიფარ პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიის ჯგუფში, ვიმენტინის ექსპრესია უფრო გამოკვეთილი იყო, ნიმუშების 75% აჩვენებდა ვიმენტინის შედეგის ზომიერ დონეს (ქულა 2), ხოლო 25% აჩვენებდა ძლიერ შედეგს (ქულა 3). CIN 1 ჯგუფში ზომიერი შედეგა (ქულა 2) დაფიქსირდა ნიმუშების 60%-ში, ხოლო CIN 2-ში ვიმენტინის ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო, ნიმუშების 80% აჩვენებდა ზომიერ და ძლიერ ექსპრესიას. ვიმენტინის რეგულაცია უფრო მოწინავე დაზიანებებში იყო სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ($p < 0.05$).



დიაგრამა 8: ვიმენტინის ექსპრესიის განაწილება სხვადასხვა ჰისტოლოგიურ ტიპებში;

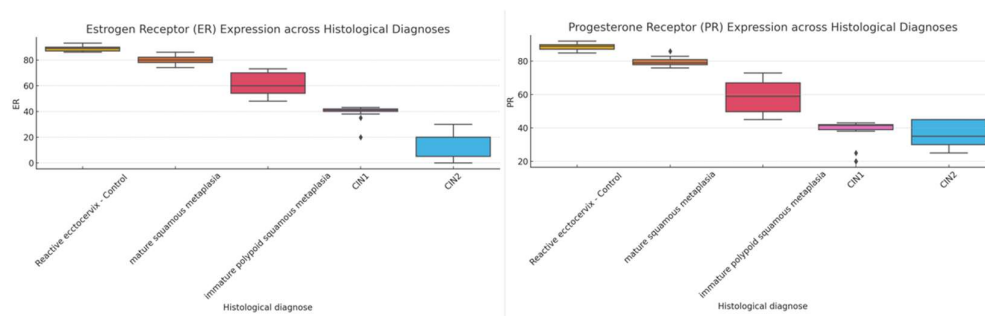
ბეტა-კატენინის ექსპრესია შეფასდა როგორც მემბრანულ, ასევე ციტოპლაზმურ ნაწილებში. რეაქტიული ექტოცერვიქსის საკონტროლო და მწიფე ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიის ჯგუფებში, ბეტა-კატენინი უპირატესად ლოკალიზებული იყო უჯრედის მემბრანაში, მინიმალური ციტოპლაზმური ექსპრესიით. თუმცა, უმწიფარ პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიის დროს, ბეტა-კატენინმა აჩვენა ციტოპლაზმური ექსპრესიის გაზრდა, ნიმუშების 60% აჩვენებდა ზომიერ და ძლიერ შედეგს. ანალოგიურად, CIN 1 და CIN 2 დაზიანებები აჩვენებდნენ ბირთვულ ექსპრესიას, CIN 1-ის 70% და CIN 2 დაზიანებების 90% აჩვენებს ზომიერ და ძლიერ შედეგს. გარდა ამისა, CIN 2 დაზიანებებმა აჩვენა ბირთვული ბეტა-კატენინის ექსპრესიის უფრო მაღალი სიხშირე (20%) დაბალი ხარისხის დაზიანებებთან შედარებით ($p < 0.05$).E-

E-კადჰერინის ექსპრესია ასევე შეფასდა ყველა საკვლევ ჯგუფში. რეაქტიული ექტოცერვიქსი - საკონტროლო და მომწიფებული ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიის ქსოვილებში, ნიმუშების 90%-მა აჩვენა ძლიერი მემბრანული შეღებვა. თუმცა, უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიის, CIN 1 და CIN 2 დაზიანებების დროს, დაფიქსირდა მემბრანული E-კადჰერინის ექსპრესიის შემცირება. კონკრეტულად, CIN 1 ნიმუშების 40%-მა და CIN 2-ის ნიმუშების 60%-მა აჩვენა სუსტი მემბრანული შეღებვა. E-კადჰერინის ექსპრესიის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი დაქვეითება აღინიშნა უფრო მაღალი ხარისხის CIN დაზიანებებში ($p < 0.05$). E-კადჰერინის ექსპრესიის ეს დაკარგვა დაკავშირებულია ვიმენტინისა და ბეტა-კატენინის ექსპრესიის გაზრდასთან, რაც მხარს უჭერს ეპითელურ-მეზენქიმული გადასვლის (EMT) წარმოქმნას.



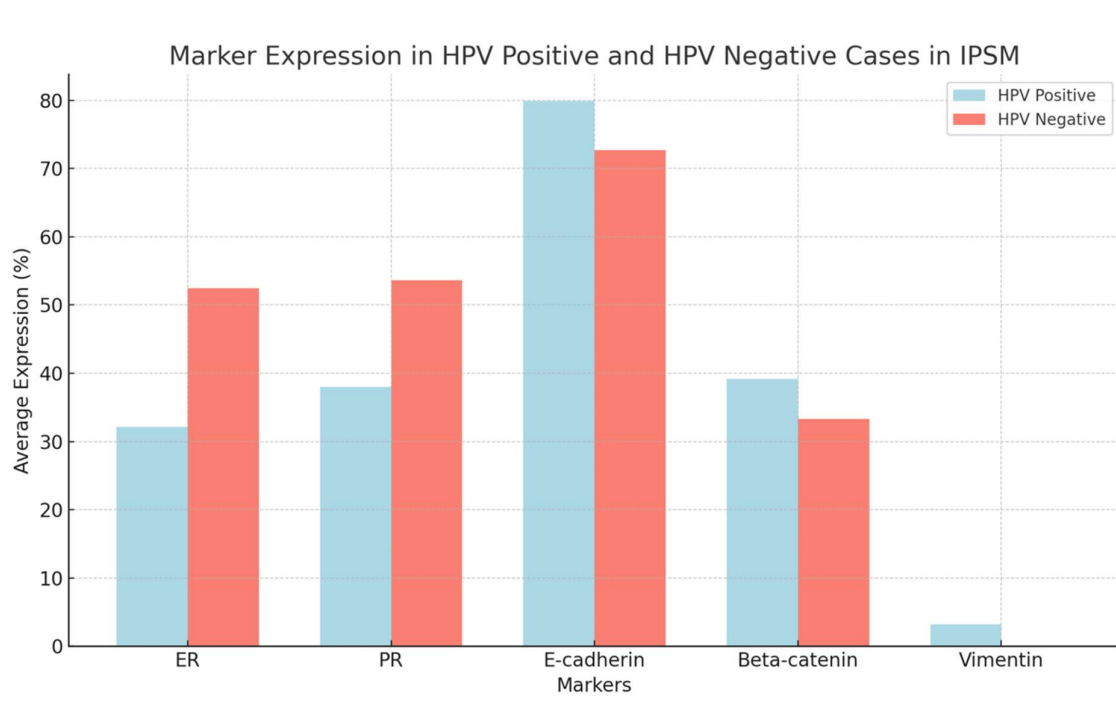
დიაგრამა 9: ბეტა-კატენინისა და E-კადჰერინის ექსპრესიის განაწილება სხვადასხვა პისტოლოგიურ ტიპებში;

ესტროგენის რეცეპტორის (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორის (PR) ექსპრესია მნიშვნელოვნად შემცირდა უფრო მაღალი ხარისხის დაზიანებებში საკონტროლო და მწიფე ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიის შემთხვევებთან შედარებით. CIN 1 ნიმუშებმა აჩვენა ER ექსპრესია შემთხვევების 50%-ში და CIN 2 დაზიანებები აჩვენებდნენ შემდგომ შემცირებას, 30% აჩვენებდა დადებით შეღებვას ER-ისთვის. PR ექსპრესიის შემცირებას მსგავს ტენდენცია მოჰყვა, CIN 2 ნიმუშების 40% აჩვენებდა სუსტ ან არარსებულ შეღებვას. ჰორმონალური რეცეპტორების ექსპრესიის ეს შემცირება მიუთითებს ჰორმონალური დისრეგულაციის პოტენციურ როლზე CIN პროგრესირებაში.



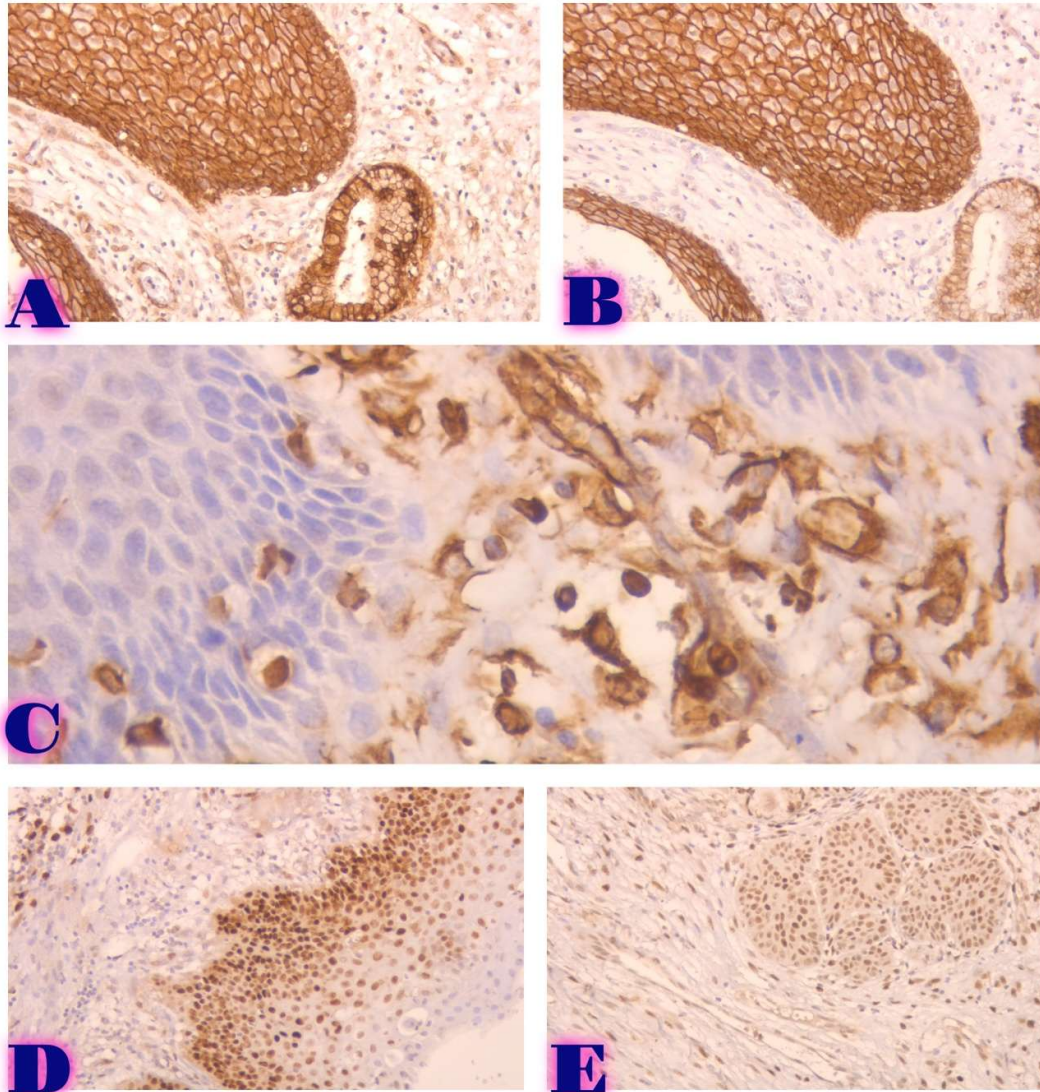
დიაგრამა 10: ჰორმონული რეცეპტორების (ესტროგენისა და პროგესტერონის) ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

HPV-დადებითმა შემთხვევებმა აჩვენა ვიმენტინის და ბეტა-კატენინის მნიშვნელოვნად მაღალი ექსპრესია HPV-უარყოფით ნიმუშებთან შედარებით. კონკრეტულად, CIN 1 და CIN 2 დაზიანებები, რომლებიც იყო HPV-დადებითი, აჩვენებდნენ ვიმენტინის უფრო ძლიერ ექსპრესიას (HPV-დადებითი CIN 1-ის 80% და HPV-დადებითი CIN 2 დაზიანების 90%). ანალოგიურად, CIN 2 დაზიანებები HPV პოზიტიურობით აჩვენებდნენ E-cadherin-ის უფრო გამოხატულ დაკარგვას (70%) HPV-უარყოფით CIN 2 დაზიანებებთან შედარებით (50%).



დიაგრამა 11: ესტროგენის, პროგესტერონის, E-კადჰერინის, ბეტა-კატენინისა და ვიმენტინის განაწილება HPV დადებით და HPV უარყოფით საშვილოსნოს ყელის უმწიფარი ბრტყელუჯრედოვანი პოლიპოიდური მეტაპლაზიის შემთხვევებში:

ასაკმა არ აჩვენა მნიშვნელოვანი კორელაცია ვიმენტინის, ბეტა-კატენინის, E-კადჰერინის ან ჰორმონალური რეცეპტორების ექსპრესიასთან სხვადასხვა ჰისტოლოგიურ დიაგნოზებში. თუმცა, მცირე ტენდენცია დაფიქსირდა, როდესაც ახალგაზრდა პაციენტებში (<40 წელზე ნაკლები) CIN 2 დაზიანებით აჩვენებდნენ ვიმენტინისა და ბეტა-კატენინის ოდნავ უფრო მაღალი ექსპრესიის დონეს ხანდაზმულ პაციენტებთან შედარებით.

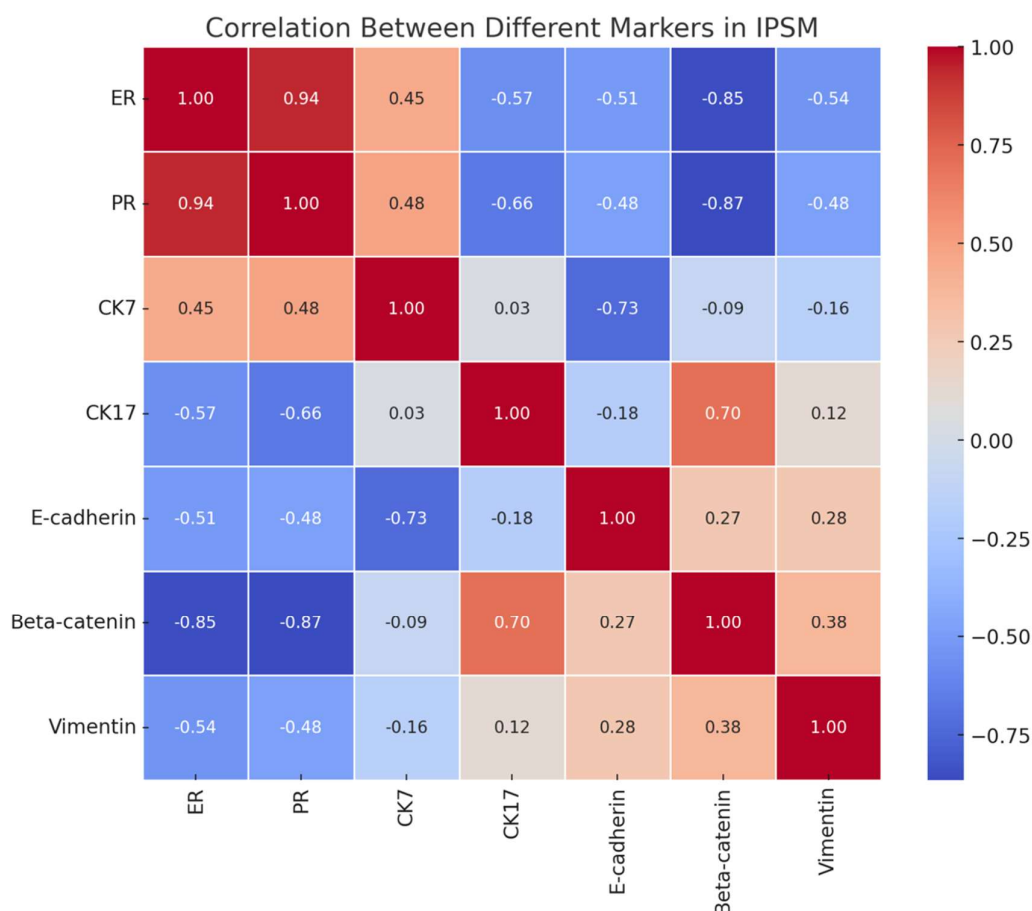


სურათი 3: A. ბეტა-კატენინის ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის უმწიფარ პოლიპოიდურ-ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიაში IHC 400X; B. E-კადჰერინის ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის უმწიფარ პოლიპოიდურ-ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიაში IHC 400X; C. ვიმენტინის ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის უმწიფარ პოლიპოიდურ-ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიაში IHC 400X; D. ესტროგენის ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის უმწიფარ პოლიპოიდურ-ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიაში IHC 400X; E. პროგესტერონის ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის უმწიფარ პოლიპოიდურ-ბრტყელუჯრედოვან მეტაპლაზიაში IHC 400X;

ჩატარდა სტატისტიკური ანალიზი იმუნოჰისტოქიმიური მარკერის ექსპრესიისა და ჰისტოლოგიურ დიაგნოზებს შორის კორელაციის შესაფასებლად.

კლევის შედეგებმა გამოავლინა მნიშვნელოვანი კორელაცია ვიმენტინისა და ბეტა-კატენინის ექსპრესიასა და CIN დაზიანებების პროგრესირებას შორის ($p < 0.05$). E-კადჰერინის ექსპრესიის დაკარგვა მნიშვნელოვნად იყო დაკავშირებული CIN 2 დაზიანებებთან ($p < 0.05$), ხოლო ER და

PR დაქვეითება მნიშვნელოვნად იყო დაკავშირებული უფრო მაღალი ხარისხის დაზიანებებთან ($p < 0.05$).



დიაგრამა 12: კორელაციური Heatmap რუკა, რომელიც გვიჩვენებს ურთიერთობას სხვადასხვა მარკერებს შორის უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიის დროს (IPSM).

ჩვენმა კვლევამ აჩვენა, რომ EMT მარკერები (ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი) მცირედ გამოხატული იყო უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიის დროს (IPSM), მათი ექსპრესია არ აჩვენებდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვან განსხვავებებს საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელიურ ნეოპლაზიასთან (CIN) შედარებით. IPSM-ში მარკერები მიუთითებდნენ EMT-ის ადრეულ სტადიაზე, მაგრამ ცვლილებები ნაკლებად გამოხატული იყო უფრო მოწინავე CIN 1 და CIN 2 დაზიანებებთან შედარებით. E-კადჰერინის დაკარგვა და ვიმენტინისა და ბეტა-კატენინის გაზრდილი ექსპრესია CIN დაზიანებებში, განსაკუთრებით CIN 2-ში, იყო სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი და დაკავშირებული იყო დაზიანების სიმძიმესთან, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ EMT თამაშობს გადამწყვეტ როლს CIN პროგრესირებაში, მაგრამ არა IPSM-ში. ამიტომ, EMT, როგორც ჩანს, ნაკლებად მნიშვნელოვანია IPSM-ში CIN-თან შედარებით, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ მიუხედავად იმისა, რომ EMT ჩართულია IPSM პროგრესში, ის ჯერ კიდევ არ აღწევს იმავე მნიშვნელობას, რომელიც დაფიქსირდა CIN-ში.

განსჯა

ჩვენი კვლევის შედეგები გვაწვდის ღირებულ შეხედულებებს ეპითელურ-მეზენქიმური ტრანსფორმაციის მარკერების (EMT) და ჰორმონული რეცეპტორების ექსპრესიის თავისებურებებზე საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის (CIN) პროგრესირებაში, განსაკუთრებით უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელუჯრედოვანი მეტაპლაზიის (IPSM) კონტექსტში. ჩვენი კვლევის შედეგების საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი არის ძირითადი ბიომარკერები, რომლებიც მონაწილეობენ დაბალი ხარისხის CIN-ის პროგრესირებაში. გარდა ამისა, ჩვენი კვლევა ხაზს უსვამს ესტროგენის რეცეპტორების (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორების (PR) ექსპრესიის შემცირებას უფრო მაღალი ხარისხის დაზიანებებში, რამაც შეიძლება შემდგომში ხელი შეუწყოს საშვილოსნოს ყელის დისპლაზიის პროგრესირებას.

ბეტა-კატენინმა, რომელიც წარმოადგენს EMT-ის საკვანძო მარკერს, აჩვენა ლოკალიზაციის მნიშვნელოვანი ცვლა მემბრანულიდან ციტოპლაზმურ და ბირთვულზე CIN 1 და CIN 2 დაზიანებებში. ეს დასკვნა შეესაბამება **Kang et al. (2013)-ის** შედეგებს რომელმაც აჩვენა, რომ ბეტა-კატენინის ბირთვული ტრანსლოკაცია არის კრიტიკული მოვლენა CIN-ის საშვილოსნოს ყელის კარცინომად პროგრესირებაში. ბეტა-კატენინის დაგროვება ციტოპლაზმასა და ბირთვში არღვევს უჯრედ-უჯრედულ ადჰეზიას და ასოცირდება უჯრედების მოტორიკის ცვლასთან და ინვაზიურ პოტენციალთან. [13]

E-cadherin-ის ექსპრესიის დაკარგვა არის EMT-ის ერთ-ერთი ყველაზე კარგად დამკვიდრებული მახასიათებელი კიბოს პროგრესირებაში. ჩვენს კვლევაში დაფიქსირდა E-კადჰერინის ექსპრესიის მნიშვნელოვანი შემცირება CIN 2 დაზიანებებში დაბალი ხარისხის დაზიანებებთან და საკონტროლო ჯგუფებთან შედარებით. ეს დასკვნა შეესაბამება **Matsui et al. (2014)-ის** კვლევის შედეგებს, რომელმაც დაადგინა, რომ E-cadherin-ის დაკარგვა CIN დაზიანებებში დაკავშირებულია სიმსივნის გაზრდილ აგრესიულობასთან და ინვაზიურ კარცინომამდე პროგრესირების მაღალ რისკთან. [14], ჩვენი კვლევის დასკვნები მხარს უჭერს ჰიპოთეზას, რომ EMT პროცესი გადამწყვეტ როლს თამაშობს საშვილოსნოს ყელის დისპლაზიის პროგრესირებაში. E-კადჰერინის ექსპრესიის შემცირება, ვიმენტინისა და ბეტა-კატენინის გაზრდილ ექსპრესიასთან ერთად, აქტიურად გვხვდება CIN 2 დაზიანებებში, რაც პოტენციურად ხელს უწყობს მათ პროგრესირებას ინვაზიურ კარცინომამდე.

ცნობილია, რომ ესტროგენი და პროგესტერონი არეგულირებენ საშვილოსნოს ყელის ეპითელიუმის ზრდას და დიფერენციაციას. მათი შესაბამისი რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირება დაკავშირებულია საშვილოსნოს ყელის დაზიანების პროგრესირებასთან. კვლევის შედეგებმა ასევე აჩვენა, რომ ER ექსპრესიის დაქვეითება მაღალი ხარისხის CIN დაზიანებებში დაკავშირებულია საშვილოსნოს ყელის ინვაზიური კიბოს პროგრესირების რისკთან (**Medeiros et al., 2018**). [15] ჩვენი დასკვნები შესაბამისობაშია აღნიშნული კვლევის შედეგებთან რომ ჰორმონული რეცეპტორების დაქვეითებამ შეიძლება გარკვეული როლი ითამაშოს საშვილოსნოს ყელის დაზიანებების ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ხელშეწყობაში.

ჩვენმა კვლევამ ასევე დაადგინა, რომ HPV-დადებითმა შემთხვევებმა აჩვენა ვიმენტინის და ბეტა-კატენინის მნიშვნელოვნად მაღალი ექსპრესია, ისევე როგორც E-კადჰერინის უფრო გამოხატული დაკარგვა CIN 2 დაზიანებებში HPV-უარყოფით ნიმუშებთან შედარებით. ეს დასკვნები შეესაბამება კვლევას, რომელმაც აჩვენა ძლიერი კავშირი მაღალი რისკის მქონე HPV ინფექციასა და საშვილოსნოს ყელის კარცეროგენეზში EMT გზების გააქტიურებას შორის. HPV ინფექცია იწვევს მეზენქიმური მარკერების ჭარბ ექსპრესიას, როგორიცაა ვიმენტინი და ბეტა-კატენინი, ხოლო იმავდროულად ამცირებს ეპითელურ მარკერებს, როგორიცაა E-cadherin, რითაც ხელს უწყობს EMT-ის ინიცირებას სიმსივნის პროგრესირებას (Garland et al., 2019)[2]. ჩვენი კვლევის შედეგები მხარს უჭერს ჰიპოთეზას, რომ HPV ინფექცია მოქმედებს, როგორც EMT-ის მთავარი მამოძრავებელი ფაქტორი საშვილოსნოს ყელის დაზიანებებში, რაც კიდევ უფრო უწყობს ხელს მათ პროგრესირებას უფრო მაღალი ხარისხის დისპლაზიისა და კარცინომისკენ.

EMT მარკერების (ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი, E-კადჰერინი) იდენტიფიკაციას, ისევე როგორც ჰორმონული რეცეპტორების ექსპრესიას შეიძლება ჰქონდეს მნიშვნელოვანი კლინიკური გავლენა. EMT, როგორც ჩანს, ნაკლებად მნიშვნელოვანია IPSM-ში CIN-თან შედარებით, EMT თამაშობს გადამწყვეტ როლს CIN პროგრესირებაში, მაგრამ არა IPSM-ში. ვიმენტინი და ბეტა-კატენინი შეიძლება იყოს ბიომარკერები მაღალი რისკის CIN დაზიანებების ადრეული გამოვლენისთვის, რაც უზრუნველყოფს პაციენტების უკეთესი რისკის სტრატეგიკაციას და უფრო მიზანმიმართული მკურნალობის სტრატეგიების შემუშავებას.

დასკვნა

ჩვენი კვლევა იძლევა მნიშვნელოვან ინფორმაციას მოლეკულურ მექანიზმებზე, რომლებსაც ემყარება საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის (CIN) პროგრესირება, განსაკუთრებული აქცენტით ეპითელურ-მეზენქიმული ტრანსფორმაციის მარკერების როლზე და ჰორმონული რეცეპტორების ექსპრესიაზე. ჩვენი დასკვნები აჩვენებს, რომ ვიმენტინი, ბეტა-კატენინი და E-კადჰერინი არის ძირითადი ბიომარკერები, რომლებიც დაკავშირებულია პროგრესირებასთან დაბალი ხარისხის დაზიანებებიდან, როგორიცაა უმწიფარი პოლიპოიდური ბრტყელი მეტაპლაზია (IPSM), უფრო მაღალი ხარისხის CIN 2 დაზიანებებამდე. ვიმენტინისა და ბეტა-კატენინის რეგულაცია, E-კადჰერინის დაკარგვასთან ერთად, მიუთითებს იმაზე, რომ EMT აქტიურად არის ჩართული საშვილოსნოს ყელის კანცეროგენეზში.

EMT მარკერები არ აჩვენებდნენ სტატისტიკურად მნიშვნელოვან განსხვავებებს IPSM-ში CIN-თან შედარებით, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ მიუხედავად იმისა, რომ EMT იმყოფება IPSM-ში, ის ჯერ კიდევ არ თამაშობს ისეთივე გადამწყვეტ როლს დაზიანების პროგრესირებაში, როგორც დაფიქსირდა CIN 1 და CIN 2 დაზიანებებში. CIN 2 დაზიანებებში EMT მარკერების ექსპრესიის მნიშვნელოვანი ცვლილებები ხაზს უსვამს EMT-ის მნიშვნელობას CIN პროგრესირების პროცესში მიყვანას. უფრო მეტიც, ესტროგენის რეცეპტორის (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორის (PR) შემცირებული ექსპრესია მაღალი ხარისხის დაზიანებებში

მიუთითებს ჰორმონალურ დისრეგულაციაზე, როგორც CIN პროგრესირების ხელშემწყობ ფაქტორად.

საბოლოოდ, მიუხედავად იმისა, რომ EMT თამაშობს ადრეულ როლს IPSC-ში, ის უფრო გამომავალი და მნიშვნელოვანია CIN დაზიანებების პროგრესირებაში, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ EMT შეიძლება იყოს ღირებული მარკერი უფრო აგრესიული CIN-ის იდენტიფიცირებისთვის. საჭიროა დამატებითი კვლევები უფრო დიდი კოჰორტებით და ფართომასშტაბიანი კლინიკური დაკვირვებით, რათა შემდგომ დაამტკიცდეს ამ ბიომარკერების კლინიკური სარგებლობა CIN პროგრესირებისა და საშვილოსნოს ყელის კიბოს განვითარების პროგნოზირებისთვის.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] R. Cappellesso et al., “The prognostic role of the epithelial-mesenchymal transition markers E-cadherin and Slug in laryngeal squamous cell carcinoma,” *Histopathology*, vol. 67, no. 4, pp. 491–500, Oct. 2015, doi: 10.1111/HIS.12668.
- [2] A. Auluck, G. Hislop, C. Bajdik, C. Poh, L. Zhang, and M. Rosin, “Trends in oropharyngeal and oral cavity cancer incidence of Human Papillomavirus (HPV)-related and HPV-unrelated sites in a multicultural population: The British Columbia experience,” *Cancer*, vol. 116, no. 11, pp. 2635–2644, Jun. 2010, doi: 10.1002/CNCR.25087.
- [3] N. A. Andrews, A. S. Jones, T. R. Helliwell, and A. R. Kinsella, “Expression of the E-cadherin-catenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases,” *Br J Cancer*, vol. 75, no. 10, pp. 1474–1480, 1997, doi: 10.1038/BJC.1997.252.
- [4] M. Lefevre et al., “Epithelial to mesenchymal transition and HPV infection in squamous cell oropharyngeal carcinomas: the papillophar study,” *Br J Cancer*, vol. 116, no. 3, p. 362, Jan. 2017, doi: 10.1038/BJC.2016.434.
- [5] S. Pirouzpanah, F. A. Taleban, P. Mehdipour, S. Sabour, and M. Atri, “Hypermethylation pattern of ESR and PgR genes and lacking estrogen and progesterone receptors in human breast cancer tumors: ER/PR subtypes,” *Cancer Biomarkers*, vol. 21, no. 3, pp. 621–638, 2018, doi: 10.3233/CBM-170697.
- [6] W. Truin, R. M. H. Roumen, S. Siesling, K. K. van de Vijver, V. C. G. Tjan-Heijnen, and A. C. Voogd, “Estrogen and progesterone receptor expression levels do not differ between lobular and ductal carcinoma in patients with hormone receptor-positive tumors,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 164, no. 1, pp. 133–138, Jul. 2017, doi: 10.1007/s10549-017-4220-x.
- [7] R. G. Lapidus, S. J. Nass, and N. E. Davidson, “The loss of estrogen and progesterone receptor gene expression in human breast cancer,” *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, vol. 3, no. 1, pp. 85–94, 1998, doi: 10.1023/A:1018778403001.

- [8] M. Branca et al., “Upregulation of nuclear factor- κ B (NF- κ B) is related to the grade of cervical intraepithelial neoplasia, but is not an independent predictor of high-risk human papillomavirus or disease outcome in cervical cancer,” *Diagn Cytopathol*, vol. 34, no. 8, pp. 555–563, Aug. 2006, doi: 10.1002/dc.20514.
- [9] K. J. Syrjänen, “Spontaneous evolution of intraepithelial lesions according to the grade and type of the implicated human papillomavirus (HPV),” *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, vol. 65, no. 1, pp. 45–53, 1996, doi: 10.1016/0028-2243(95)02303-A.
- [10] M. J. Arends, C. H. Buckley, and M. Wells, “Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia,” *J Clin Pathol*, vol. 51, no. 2, pp. 96–103, 1998, doi: 10.1136/jcp.51.2.96.
- [11] J. A. Glenn et al., “Longitudinal patterns of recurrence in patients with adrenocortical carcinoma,” *Surgery (United States)*, vol. 165, no. 1, pp. 186–195, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.SURG.2018.04.068.
- [12] M. Branca et al., “Up-regulation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is closely associated with high-risk human papillomavirus (HPV) and progression of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), but does not predict disease outcome in cervical cancer,” *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, vol. 130, no. 2, pp. 223–231, 2007, doi: 10.1016/j.ejogrb.2006.10.007.
- [13] M. Shen and Y. Kang, “Role Reversal: A Pro-metastatic Function of E-Cadherin,” *Dev Cell*, vol. 51, no. 4, pp. 417–419, Nov. 2019, doi: 10.1016/J.DEVCEL.2019.10.028.
- [14] T. Svanadze, S. Kepuladze, N. Tevzadze, and G. Burkadze, “ASSESSMENT OF PROLIFERATIVE ACTIVITY OF DIFFERENT TYPES OF SQUAMOUS CELL METAPLASIA OF THE CERVIX USING AgNor TECHNOLOGY,” *ქართველი მეცნიერები*, vol. 5, no. 2, pp. 275–287, Jun. 2023, doi: 10.52340/gc.2023.05.02.35.
- [15] S. Boulénouar et al., “Effects of HPV-16 E5, E6 and E7 proteins on survival, adhesion, migration and invasion of trophoblastic cells,” *Carcinogenesis*, vol. 31, no. 3, pp. 473–480, Mar. 2010, doi: 10.1093/CARCIN/BGP281.

Role of Epithelial-Mesenchymal Transition Markers and Hormonal Receptor Expression in the Immature Polypoid Squamous Metaplasia

Tamar Svanadze; Shota Kepuladze; George Burkadze

Abstract:

Cervical intraepithelial neoplasia (CIN) is a key precursor to cervical cancer, and understanding the molecular mechanisms underlying its progression is critical for improving diagnostic and therapeutic strategies. Immature polypoid squamous metaplasia (IPSM) represents a distinct histological entity that may play a role in the progression of CIN. This study aimed to investigate the expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers (vimentin, beta-catenin, and E-cadherin) and hormonal receptors (estrogen receptor [ER] and progesterone receptor [PR]) in various stages of CIN, including IPSM. A total of 195 patients with reactive ectocervix, mature squamous metaplasia, IPSM, and CIN (CIN 1 and CIN 2) were included. Immunohistochemical staining was performed to assess the expression of vimentin, beta-catenin, E-cadherin, ER, and PR. HPV status was also determined, and the correlation between marker expression and histological grade was analysed. The study found significant upregulation of vimentin and beta-catenin expression and a loss of E-cadherin in CIN lesions, particularly in CIN 2. HPV-positive cases exhibited higher expression of EMT markers and more pronounced loss of E-cadherin compared to HPV-negative cases. Additionally, ER and PR expression was significantly reduced in higher-grade CIN lesions. These molecular changes were strongly associated with progressing from lower-grade CIN and IPSM to CIN 2. Our findings suggest that the upregulation of EMT markers and the downregulation of hormonal receptors play key roles in the progression of CIN. These markers, particularly vimentin, beta-catenin, and E-cadherin, may be valuable biomarkers for early detection and risk stratification in cervical cancer prevention. Future research should explore the therapeutic potential of targeting these molecular pathways, particularly in HPV-positive CIN lesions.

Keywords: EMT; CIN; IPSM; HPV;

ავტორების შესახებ დამატებითი ინფორმაცია:

თამარ სვანაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის PhD სტუდენტი

Tamar Svanadze – Phd Student at Tbilisi State Medical University,

E-Mail: ta.svanadze@gmail.com

შოთა კეპულაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ექიმი

პათოლოგანატომი; მედიცინის აკადემიური დოქტორი;

Shota Kepuladze –Tbilisi State Medical University, MD, Clinical Pathologist; PhD in

Oncology/Pathology;

E-mail: shota.kepuladze@gmail.com

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

გიორგი ბურკაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი,

მოლეკულური 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

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