

CD44, FOXP3 და Ki67, როგორც საკვერცხის უმწიფარი ტერატომების აგრესიულობისა და მეტასტაზირების პოტენციალის პროგნოზული მარკერები

ნ.თავდგირიძე; გ.თევდორაშვილი; შ.კეპულაძე; გ.ბურკაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

საკვერცხის უმწიფარი ტერატომა იშვიათი გერმინაციულ უჯრედული სიმსივნეა, რომელიც ხასიათდება სხვადასხვა ხარისხის ნეიროეპითელური დიფერენციაციითა და ავთვისებიანი პოტენციალით. ჩვენი კვლევა აფასებს Ki67-ის, CD44-ისა და FOXP3-ის როლს, როგორც სიმსივნის აგრესიულობის, პროგრესირებისა და მეტასტაზური პოტენციალის ინდიკატორებს. ჩვენი კვლევის ფარგლებში ჩატარდა რეტროსპექტული კოჰორტული კვლევა იმუნოჰისტოქიმიური ტექნოლოგიის გამოყენებით საკვერცხის უმწიფარი ტერატომის 26 შემთხვევაზე, რომლებიც დიაგნოზირებულ იქნა 2015-2025 წლებში. სიმსივნეთა დიფერენციაცია შეფასდა WHO კლასიფიკაციის მიხედვით და Ki67, CD44 და FOXP3 ექსპრესია შეფასდა ნახევრად რაოდენობრივი მეთოდის გამოყენებით. ჩატარდა კორელაციური ანალიზი მარკერებსა და სიმსივნის მახასიათებლებს შორის, როგორცაა ნეკროზი, სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტები (TILs) და მიტოზური ინდექსი. სტატისტიკური მნიშვნელობა განისაზღვრა სპირმენის კორელაციის, კრუსკალ-ვალისის ტესტისა და კაპლან-მაიერის გადარჩენის ანალიზის გამოყენებით.

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ Ki67 ექსპრესია მნიშვნელოვნად გაიზარდა სიმსივნის ჰისტოლოგიური დიფერენციაციის ხარისხის მატებასთან ერთად (მედიანა: 12% G1; 35% G2 და 65% G3; $p < 0.001$), რაც დაკავშირებულია უფრო მაღალ მიტოზურ ინდექსთან და გაზრდილ სიმსივნის აგრესიულობასთან. CD44 ექსპრესია მიჰყვებოდა მსგავს ტენდენციას (8% G1, 42% G2, 78% G3; $p < 0.01$), რის შედეგადაც შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ მაღალპროლიფერაციული სიმსივნეები ავლენენ ღეროვანი უჯრედების მსგავს, ინვაზიურ თვისებებს. FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად გაიზარდა Grade 3 სიმსივნეებში და მეტასტაზურ შემთხვევებში (5% G1, 25% G2, 58% G3; $p < 0.01$), რაც მიუთითებს მის როლზე იმუნური ზედამხედველობის დათრგუნვაში. კორელაციის ანალიზმა გამოავლინა ძლიერი ასოციაციები Ki67-სა და CD44-ს ($r = 0,72$, $p < 0,01$), Ki67-სა და FOXP3-ს ($r = 0,68$, $p < 0,01$) და CD44-სა და FOXP3-ს ($r = 0,65$, $p < 0,05$) შორის. ჩვენი კვლევა ხაზს უსვამს მაღალი რისკის შემთხვევებისთვის პერსონალიზირებული მიდგომების შემდგომი კვლევის საჭიროებას და მხარს უჭერს ამ მარკერების ჩართვას რუტინულ ჰისტოპათოლოგიურ შეფასებაში პროგნოზის სტრატეგიკაციისა და მკურნალობის სტრატეგიების დაგეგმვის დახვეწისათვის.

საკვანძო სიტყვები: საკვერცხის უმწიფარი ტერატომა; Ki67, CD44, FOXP3, იმუნური სუპრესია;

შესავალი

საკვერცხის ტერატომა არის გერმინაციულ უჯრედული სიმსივნე, რომელიც წარმოიქმნება საკვერცხის ტოტიპოტენტური უჯრედებისაგან და ავლენს სომატური ქსოვილის სხვადასხვა ტიპებად დიფერენციაციას[1]. სიმსივნეები კლასიფიცირდება მწიფე ტერატომებად, რომლებიც კეთილთვისებიანია და შედგება კარგად დიფერენცირებული ქსოვილებისგან, და უმწიფარ ტერატომებად, რომლებიც შეიცავს ავთვისებიანი პოტენციალის მქონე ემბრიონულ ან ნაყოფის მსგავს ქსოვილს[2]. მწიფე ტერატომებს, ჩვეულებრივ, დერმოიდულ ცისტებს, ახასიათებს სრულად დიფერენცირებული ქსოვილების არსებობა, როგორიცაა კანი, თმა, ცხიმოვანი ჯირკვლები და ზოგჯერ ნერვული ან ფარისებრი ჯირკვლის ქსოვილი. ისინი თითქმის ყოველთვის კეთილთვისებიანი მიმდინარეობით ხასიათდება. ამის საპირისპიროდ, უმწიფარი ტერატომები შეიცავს მოუმწიფებელ ნეიროეპითელურ, მეზენქიმურ და ენდოდერმულ ელემენტებს სხვადასხვა პროპორციით. უმწიფარი ნერვული ქსოვილის არსებობა ავთვისებიანი სიმსივნეების რისკისა და კლასიფიკაციის მთავარ განმსაზღვრელს წარმოადგენს.

უმწიფარი ტერატომები შეადგენს საკვერცხის ყველა ტერატომის დაახლოებით 1 %-ს და წარმოადგენს საკვერცხის ჩანასახოვანი უჯრედების ავთვისებიანი სიმსივნეების 30%-ს[3]. ისინი ძირითადად გვხვდება მოზარდ გოგონებში და ახალგაზრდა ქალებში, საშუალო ასაკს შეადგენს 18-დან 25-მდე. მათი იშვიათობის გამო, კლინიკური მონაცემები და სტანდარტიზებული მკურნალობის მიდგომები რჩება შეზღუდული. ამ სიმსივნეებმა შეიძლება გამოავლინონ მრავალი კლინიკური გართულება, მათ შორის ადგილობრივი ინვაზია და რეციდივი, პერიტონეალური გავრცელება სიმსივნის რღვევის გამო, ავთვისებიანი ტრანსფორმაცია მეორად სომატური ტიპის ავთვისებიან სიმსივნეებად, როგორიცაა ნეიროექტოდერმული სიმსივნეები, სარკომები ან სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ტიპის კარცინომა. შორეული მეტასტაზები ყველაზე ხშირად მოიცავს ფილტვებს, ღვიძლსა და ცენტრალურ ნერვულ სისტემას[4].

უმწიფარი ტერატომების ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოსტიკა წარმოადგენს მნიშვნელოვან გამოწვევებს ნეიროეპითელური ელემენტების ჰეტეროგენურობისა და ობიექტური შეფასების კრიტერიუმების არარსებობის გამო[5], [6]. ამ სიმსივნეების კლასიფიკაცია ეფუძნება უმწიფარი ნეიროეპითელური ქსოვილის პროპორციას. თუმცა, დამკვირვებელთა შორის ცვალებადობა რჩება მთავარ გამოწვევის საკითხად. გარდა ამისა, უმწიფარი ტერატომების გარჩევა მეორადი ავთვისებიანი ნეირობლასტური სიმსივნეების, პრიმიტიული ნეიროექტოდერმული სიმსივნეების, მცირე ლურჯ-უჯრედული სიმსივნეებისა და ყვითლის პარკის სიმსივნეებისაგან შეიძლება რთული იყოს.

ჰისტოპათოლოგიურად უმწიფარი ტერატომის დიაგნოზი ეყრდნობა მოუმწიფებელი ნეიროეპითელური კომპონენტების, როგორიცაა მილაკების, როზეტებისა და პრიმიტიული ნერვული ქსოვილის იდენტიფიკაციას ჰემატოქსილისა და ეოზინის (H&E) ტექნოლოგიით[7], [8]. მიტოზური აქტივობისა და ნეკროზის ხარისხი გავლენას ახდენს ჰისტოლოგიური დიფერენციაციის ხარისხზე. იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი გადამწყვეტ

როლს თამაშობს ამ სიმსივნეების შემდგომ ვერიფიკაციასა და სტრატეგიკაციაში. პროლიფერაციის მარკერების, როგორცაა Ki67-ის გამოყენებით, აუცილებელია შეფასდეს უჯრედული პროლიფერაციის სიხშირე, ხოლო BCL2 წარმოადგენს ანტიაპოპტოზურ მარკერს[9]. ნეიროეპითელური დიფერენციაცია შეიძლება შემდგომ შეფასდეს მარკერების გამოყენებით, როგორცაა SOX2, Nestin და GFAP, რომლებიც მიუთითებენ ნერვული მილის მსგავსი კომპონენტების არსებობაზე. CD44, იძლევა შეხედულებას სიმსივნის აგრესიულობის, ინვაზიური პოტენციალისა და მეტასტაზური რისკის შესახებ[10], [11].

მოლეკულური პათოლოგიის მიღწევების მიუხედავად, უმწიფარი ტერატომების რამდენიმე ასპექტი ჯერ კიდევ ცუდად არის შესწავლილი. ფაქტორები, რომლებიც პროგნოზირებენ მეტასტაზურ გავრცელებას, მკაფიოდ არ არის დადგენილი, რადგან სიმსივნეები მკვეთრად ჰეტეროგენულია და ყველა მაღალი ხარისხის სიმსივნე არ ავლენს მეტასტაზურ ქცევას. ნეიროეპითელური ჰეტეროგენურობის როლი სიმსივნის პროგრესირებაში ჯერ კიდევ რჩება აქტიური შესწავლილის საგნად. გარდა ამისა, არ არსებობს სტანდარტიზებული პანელები დიაგნოსტიკური შეფასებისა თუ შემდგომი პროგნოზისთვის. დამიზნებითი თერაპიული საშუალებები კვლავ რჩება შეზღუდული, კლინიკური მენეჯმენტი ძირითადად ეყრდნობა ქირურგიულ რეზექციასა და ქიმიოთერაპიას[12].

უმწიფარი ტერატომები მეტასტაზირებენ ჰემატოგენური და ლიმფოგენური გზებით, ფილტვები შორეული მეტასტაზების ყველაზე გავრცელებული ადგილია. გავრცელების სხვა ადგილებია ღვიძლი, პერიტონეუმი, ტვინი და რეტროპერიტონეალური ლიმფური კვანძები. უმწიფარი ტერატომების მკურნალობა ჩვეულებრივ მოიცავს სრულ ქირურგიულ რეზექციას, რასაც მოჰყვება ქიმიოთერაპია Grade 2 და Grade 3 ხარისხის სიმსივნეებისა და მეტასტაზური შემთხვევებისთვის. სტანდარტული ქიმიოთერაპიის რეჟიმი მოიცავს ბლეომიცინის, ეტოპოზიდის და ცისპლატინის (BEP) კომბინაციას. ამ სიმსივნეების პროგნოზი დამოკიდებულია ხარისხზე, Grade 1 ხარისხის სიმსივნეებს აქვთ შესანიშნავი პროგნოზი ქირურგიული ამოკვეთის შემდეგ, ხოლო უფრო მაღალი ხარისხის სიმსივნეებს აქვთ რეციდივის უფრო მაღალი რისკი და საჭიროებენ დამხმარე ქიმიოთერაპიას. მეტასტაზურ დაავადებას აქვს ქიმიოთერაპიაზე პასუხის მიხედვით ცვალებადი პროგნოზი[13].

უმწიფარი ტერატომების უახლესი კვლევები ფოკუსირებულია მოლეკულურ პროფილირებაზე, რათა დადგინდეს გენეტიკური მუტაციები და გზები, რომლებიც მონაწილეობენ სიმსივნის პროგრესირებაში, ისევე როგორც იმუნოჰისტოქიმიური კვლევები, რომლებიც აფასებენ მარკერებს, რომლებიც დაკავშირებულია პროლიფერაციასთან, აპოპტოზთან და მეტასტაზირებასთან.[14] სიმსივნის მიკროგარემო, განსაკუთრებით იმუნური პასუხი აგრესიულ შემთხვევებში, მზარდი ინტერესის სფეროა. მარეგულირებელი T უჯრედების მარკერმა FOXP3-მა შესაძლოა საფუძვლიანად გამოავლინოს მაღალი ხარისხის უმწიფარი ტერატომების და მეტასტაზური შემთხვევების იმუნური აცილების მექანიზმები. გარდა ამისა, CD44 და BCL2-ის ექსპრესია, როგორც პირველად ასევე მეტასტაზურ დაზიანებებში შეიძლება დაგვეხმაროს სიმსივნის პროგრესირებისა და გადარჩენის განმსაზღვრელი ფაქტორების გარკვევაში. ახალი თერაპიული სამიზნეების, მათ შორის ღეროვანი უჯრედების აქტივობის გზების მოლეკულური ინჰიბიტორების (CD44, SOX2) და

იმუნური გამშვები პუნქტის რეგულირების (FOXP3, PD-L1) კვლევამ შეიძლება უზრუნველყოს აგრესიული შემთხვევებისთვის მკურნალობის ახალი ვარიანტები [15], [16], [17].

ჩვენი კვლევა მიზნად ისახავს Ki67, CD44 და FOXP3-ის იმუნოჰისტოქიმიური პროფილის ანალიზს უმწიფარი საკვრცხის ტერატომების ჯგუფში, რომელიც აკავშირებს მარკერის ექსპრესიას სიმსივნის ხარისხთან და მეტასტაზურ პოტენციალთან. იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის ნიმუშების კლინიკოპათოლოგიურ მონაცემებთან ინტეგრირებით, ეს კვლევა ცდილობს გააუმჯობესოს უმწიფარი საკვრცხის ტერატომების შესახებ ლიტერატურაში არსებული მწირი ინფორმაცია და უზრუნველყოს კლინიკური პრაქტიკისთვის პოტენციური პროგნოზული მარკერები.

მასალა და მეთოდები

კვლევის დიზაინი: ჩვენი კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტულ კოჰორტულ კვლევას, რომელიც ჩატარდა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის (თსსუ) სამეცნიერო, დიაგნოსტიკური და კვლევითი ლაბორატორიაში, 2015-2025 წლებში დიაგნოსტირებულ საკვრცხის უმწიფარი ტერატომის შემთხვევებზე. კვლევა მოიცავს არქივირებულ ფორმალინში ფიქსირებულ და პარაფინში ჩაყალიბებულ (FFPE) ქსოვილის ბლოკებს, შესაბამისი კლინიკური და ჰისტოლოგიური მონაცემებით. კვლევა მხარდაჭერილია თსსუ-ს ეთიკის კომიტეტის მიერ, რაც პაციენტის ანონიმური მონაცემების გამოყენების საშუალებას იძლევა. კვლევისას შესწავლილი იყო მხოლოდ არაპერსონალიზებული კლინიკური ცვლადები, როგორიცაა ასაკი, კლინიკური დიაგნოზი, ქირურგიული პროცედურების ტიპი, ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზი და IHC კვლევის შედეგები.

შემთხვევის შერჩევისა და ჩართვის კრიტერიუმები: კვლევა მოიცავდა ჯამში ჰისტოლოგიურად დადასტურებული საკვრცხის უმწიფარი ტერატომის 26 შემთხვევას. შერჩევის კრიტერიუმები იყო შემდეგი: 1. უმწიფარი საკვრცხის ტერატომების ჰისტოლოგიური დადასტურება, შეფასებული ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის (WHO) კლასიფიკაციის მიხედვით (ხარისხი 1, ხარისხი 2 და 3 ხარისხი); 2. იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზისთვის შესაფერისი FFPE ბლოკების არსებობა; 3. დოკუმენტირებული კლინიკური და ჰისტოლოგიური პარამეტრები; 4. მინიმუმ ერთი წლის შემდგომი დაკვირვების (Follow-up) მონაცემები რეციდივის ან მეტასტაზური პროგრესირების შესახებ.

რეტროსპექტული მონაცემების მოძიება განხორციელდა კლინიკური და ლაბორატორიული არქივებიდან და ელექტრონული სამედიცინო ჩანაწერებიდან. თითოეულ კვლევით ალგორითმში დაფიქსირდა შემდეგი პარამეტრები:

- პაციენტის დემოგრაფიული მონაცემები: ასაკი დიაგნოზისტირების დროს;
- კლინიკური მახასიათებლები: კლინიკური დიაგნოზი;
- ქირურგიული ჩარევის ტიპი (ოფორექტომია, ცისტექტომია ან სიმსივნის რეზექცია);
- ჰისტოპათოლოგიური პარამეტრები: სიმსივნის ხარისხი (WHO კლასიფიკაცია: Grade 1, Grade 2, Grade 3);
- უმწიფარი ნეიროეპითელური დიფერენციაციის არსებობა და მასშტაბი;
- მიტოზური ინდექსი (მიტოზები 10 მაღალი გადიდების მხედველობის ველზე (HPF));
- სიმსივნის ზომა;

- ნეკროზის შეფასება (ფოკალური ნეკროზი; ვრცელი ნეკროზის არსებობა);
- სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტები (TILs);
- შემდგომი დაკვირვების (Follow-up) მონაცემები: სიმსივნის რეციდივი, მეტასტაზები (ასეთის არსებობის შემთხვევაში) და გადარჩენის სტატუსი.

იმუნოჰისტოქიმია (IHC) ჩატარდა FFPE ბლოკების 4 მკმ სისქის ანათლებზე ავტომატური Leica Bond შესაღები აპარატის გამოყენებით (Leica Biosystems, გერმანია). პირველადი ანტისხეულები, მათი შესაბამისი კლონები და წყაროები ჩამოთვლილია ქვემოთ:

მარკერის დასახელება	Clone	განზავება	ლოკალიზაცია	მომწოდებელი
Ki67 (პროლიფერაცილი მარკერი)	MIB-1	1:100	ბირთვული	Leica Biosystems
CD44 (დეროვან-უჯრედული)	DF1485	1:100	მემბრანული	Leica Biosystems
FOXP3 (მარეგულირებელი T-უჯრედული)	236A/E7	1:100	ბირთვული	Leica Biosystems

ცხრილი 4: კვლევის შედეგად გამოყენებული ანტისხეულები, შესაბამისი კლონებით, განზავებით, ექსპრესიის ლოკალიზაციის ნიმუშებითა და მომწოდებელი კომპანიის დასახელებით;

პლაცენტური, ნერვული ან ლიმფოიდური ქსოვილები გამოიყენებოდა დადებით კონტროლად მარკერის ექსპრესიის სარწმუნოდ შეფასებისათვის.

იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის შეფასება: თითოეული მარკერის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესია შეფასებული იყო ნახევრად რაოდენობრივი შეფასების მეთოდით, დადებითად შეღებილი სიმსივნური უჯრედების პროცენტული მაჩვენებლისა და შეღებვის ინტენსივობის საფუძველზე. გამოყენებული იქნა შემდეგი ქულების სისტემა:

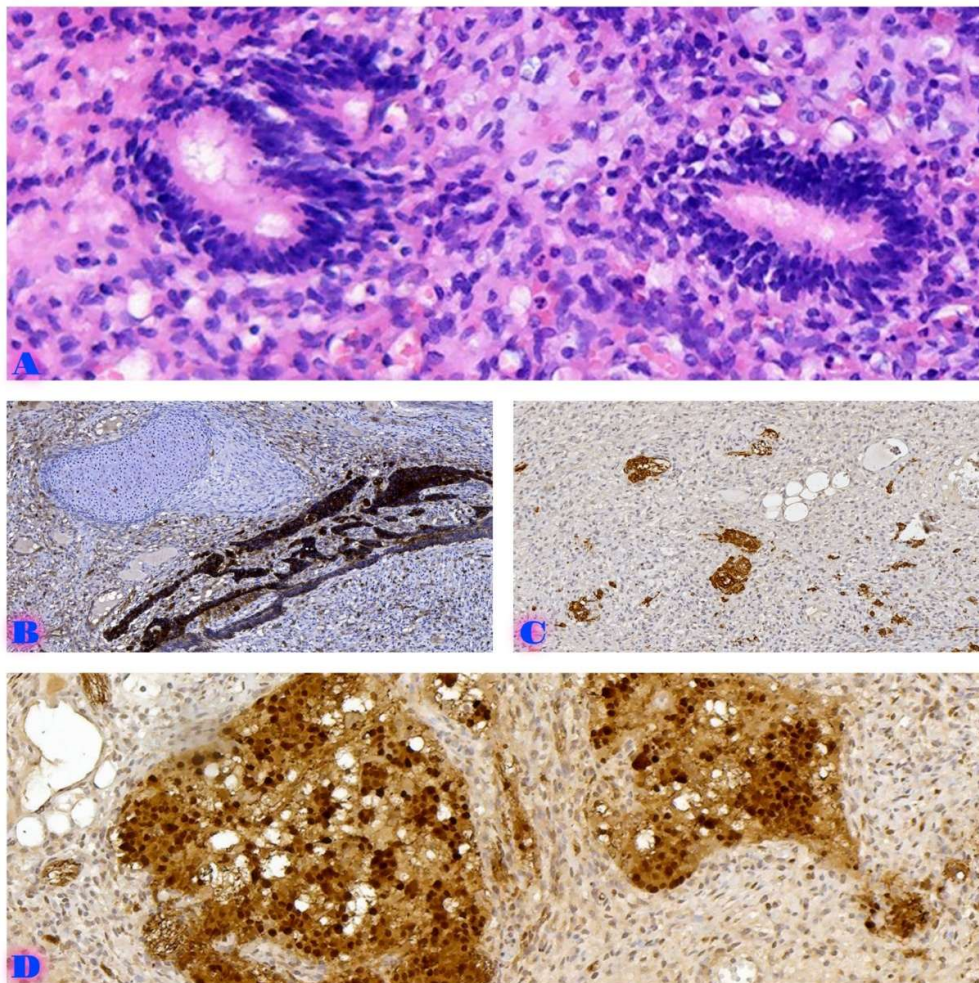
ქულა	შეღებვის ინტენსივობა	პოზიტიური სიმსივნური უჯრედების პროცენტობა
0 (Negative)	არ აღინიშნება	0%
1+ (Weak)	სუსტი	<10%
2+ (Moderate)	ზომიერი	10–50%
3+ (Strong)	ძლიერი	>50%

შეღებილი ანათლების ციფრული დამუშავება: ყველა შეღებილი მინა დიგიტალიზირებული იქნა MOTIC EasyScan Pro ციფრული სლაიდების სკანერის გამოყენებით (Motic, ჰონგ კონგი) 400× გადიდებით. რაოდენობრივი IHC ანალიზი ჩატარდა Qupath პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით, რამაც საშუალება მოგვცა ქულების ავტომატური შეფასებისა და დამკვირვებელთა შორის ვარიაციურობის შესამცირებლად.

სტატისტიკური ანალიზი: სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS (Version XX, IBM Corp.) გამოყენებით. გამოყენებული იქნა შემდეგი სტატისტიკური ტესტები:

აღწერითი სტატისტიკა: საშუალო, მედიანა და სტანდარტული გადახრა ასაკის, სიმსივნის ზომისა და მიტოზური ინდექსისთვის; იმუნოჰისტოქიმიური მარკერის ექსპრესიის შედარება სიმსივნის დიფერენციაციის ხარისხების მიხედვით (1, 2 და 3): კრუსკალ-ვალისის ტესტი (არაპარამეტრული განაწილებისთვის); ცალმხრივი ANOVA (თუ ნორმალური განაწილება დადასტურდა); პირველადი და მეტასტაზური სიმსივნეების შედარება: Wilcoxon signed-rank ტესტი (დაწყვილებული მარკერის ექსპრესიის შედარებისთვის).

კორელაციის ანალიზი: სპირმანის კორელაციის კოეფიციენტი მარკერის ექსპრესიის, სიმსივნის ხარისხის, მიტოზური ინდექსისა და მეტასტაზურ პოტენციალს შორის კავშირის შესაფასებლად;



სურათი 4: A. ნეიროეპითელის კუნძულები უმწიფარი ტერატომა 450X H&E Motic Digital Slide; B. მწიფე ხრტილოვანი კომპონენტი და უმწიფარი ნეიროეპითელის კუნძულები CD44 მარკერის ექსპრესია 200X IHC; C. G2 უმწიფარი ტერატომა CD44 მარკერის ექსპრესია 200X IHC; D. Ki 67 მარკერის მაღალი ხარისხის ექსპრესია G3 უმწიფარი ტერატომა IHC 200X;

შედეგები

კლინიკოპათოლოგიური მახასიათებლები: კვლევაში ჩართული იყო საკვერცხეების უმწიფარი ტერატომის 26 შემთხვევა, შემდეგი განაწილებით: Grade 1 ($n = 12$, 46.2%), Grade 2 ($n = 8$, 30.8%) და Grade 3 ($n = 6$, 23.0%). დიაგნოსტიკის დროს პაციენტთა საშუალო ასაკი იყო 20.2 წელი (მედიანა 20 წელი, დიაპაზონი 10-30 წელი), Grade 1 სიმსივნეების დიაგნოსტიკებული იყო საშუალოდ 18.5 წლის ასაკში, Grade 2 - 21.0 წელი და Grade 3 - 22.8 წელი. სიმსივნის უფრო დიდი ზომა ასოცირებული იყო სიმსივნის უფრო მაღალ ხარისხთან (G3), Grade 1 სიმსივნეები საშუალოდ - 6.5 სმ, Grade 2 სიმსივნეები - 8.1 სმ და Grade 3 სიმსივნეები - 10.2 სმ ($p < 0.05$).

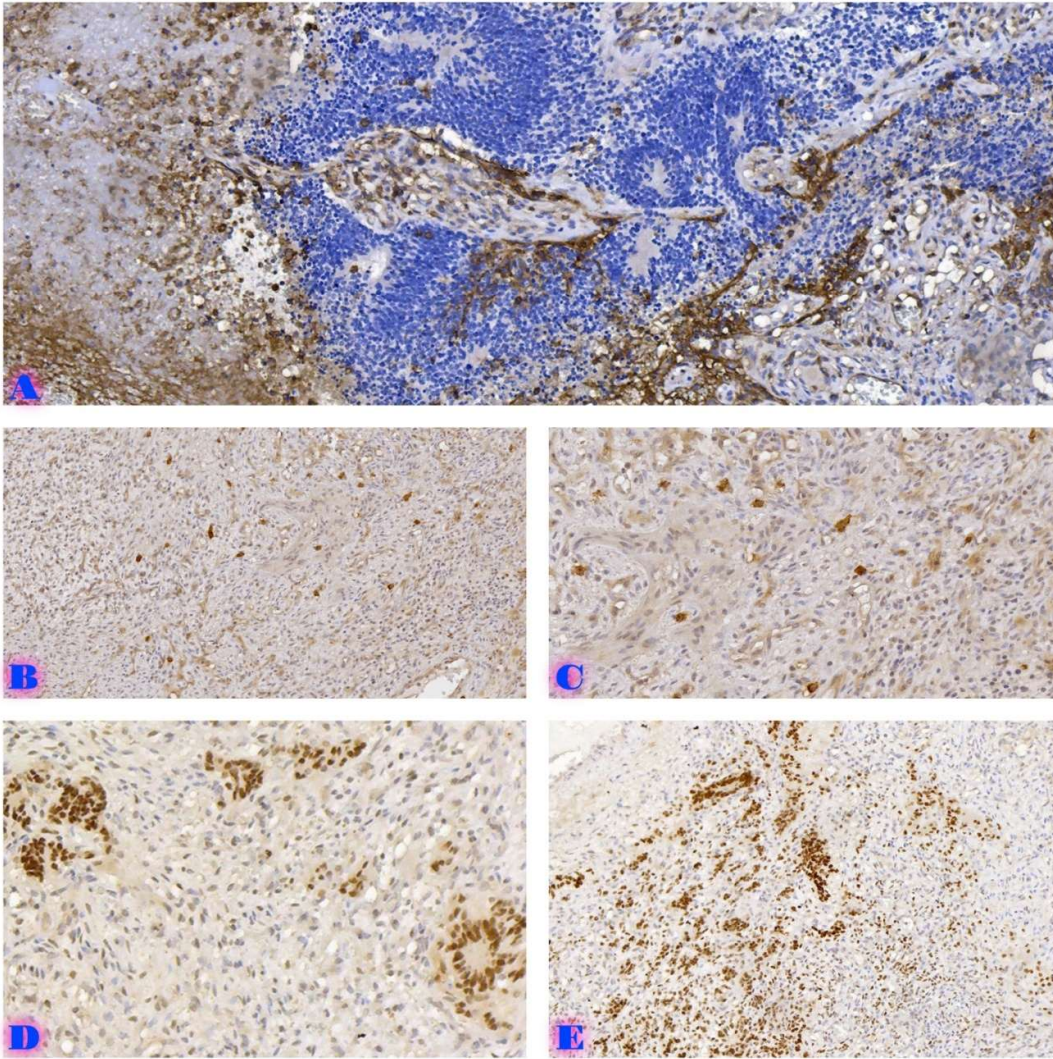
მიტოზური ინდექსი მნიშვნელოვნად გაიზარდა სიმსივნის დიფერენციაციის კლების კვალდაკვალ, საშუალოდ 2.5 მიტოზი/10 HPF G1 ხარისხში, 5.8 მიტოზი/10 HPF G2 ხარისხში და 12.1 მიტოზი/10 HPF G3 ხარისხში ($p < 0.001$). სიმსივნის ნეკროზი იდენტიფიცირებული იყო G2 ხარისხის სიმსივნეების 25.0%-ში და G3 ხარისხის სიმსივნეების 66.7%-ში, რაც დაკავშირებულია სიმსივნის აგრესიულობასთან ($p < 0.05$). სიმსივნის ინფილტრაციული ლიმფოციტები (TILs) დაფიქსირდა ყველა შემთხვევის 38.5%-ში, მნიშვნელოვნად მაღალი სიმკვრივით G3 ხარისხის სიმსივნეებში ($p < 0.05$).

იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის ანალიზი:

Ki67 პროლიფერაციის ინდექსი მნიშვნელოვნად მაღალი იყო G3 ხარისხის სიმსივნეებში G1 ხარისხთან შედარებით ($p < 0.001$). Ki67-ის მედიანური მაჩვენებელი სიმსივნის კლასებში იყო 12% G1 ხარისხში, 35% G2 ხარისხში და 65% G3 ხარისხში, რაც მიუთითებს პირდაპირ კავშირზე პროლიფერაციის სიჩქარესა და სიმსივნის დიფერენციაციის ხარისხს შორის. აღსანიშნავია, რომ Ki67 ექსპრესია კორელაციაშია მიტოზურ ინდექსთან ($r = 0.79$, $p < 0.01$), რაც მხარს უჭერს მის როლს, როგორც სიმსივნის პროლიფერაციის საიმედო მარკერს.

CD44 ექსპრესია იყო სუსტი ან არ აღინიშნებოდა G1 ხარისხის სიმსივნეებში, მაგრამ მნიშვნელოვნად გაიზარდა G2 და G3 ხარისხის სიმსივნეებში ($p < 0.01$). CD44-ის საშუალო ექსპრესია იყო 8% G1 ხარისხში, 42% G2 ხარისხში და 78% G3 ხარისხში, რაც აჩვენებს ძლიერ კორელაციას სიმსივნის პროგრესირებასთან. გარდა ამისა, CD44 ექსპრესია დადებითად იყო დაკავშირებული Ki67-თან ($r = 0.72$, $p < 0.01$), რაც ვარაუდობს, რომ მაღალი პროლიფერაციის სიმსივნეები აჩვენებენ უფრო ღეროვან უჯრედულ ფენოტიპს.

FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად გაიზარდა G3 ხარისხის სიმსივნეებში და მეტასტაზურ შემთხვევებში დაბალი ხარისხის სიმსივნეებთან შედარებით ($p < 0.01$). FOXP3-ის საშუალო ექსპრესიის მაჩვენებელი იყო 5% G1 კლასში, 25% G2 ხარისხში და 58% G3 ქვეჯგუფში, რაც მიუთითებს იმუნური ზედამხედველობის დაზიანების პოტენციურ როლზე. კორელაციური ანალიზმა აჩვენა, რომ FOXP3 მნიშვნელოვნად იყო დაკავშირებული CD44-ის ექსპრესიასთან ($r = 0.65$, $p < 0.05$), რაც მიუთითებს იმაზე, რომ სიმსივნეებს უფრო მაღალი ღეროვანი პოტენციალით შეიძლება აჩვენონ იმუნური სისტემისაგან გასხლტომის მექანიზმები.



სურათი 5: A. CD44-ის დაბალი ხარისხის ექსპრესია უმწიფარი ტერატომის ნეიროეპითელში 200X ,IHC; B. FOXP3-ის ექსპრესია უმწიფარი ტერატომა G2 400X, IHC; C. FOXP3-ის ექსპრესია უმწიფარი ტერატომა G3 400X,IHC; D. Ki 67-ის ექსპრესია G2 უმწიფარი ტერატომის ნეიროეპითელის კომპონენტში, 400X,IHC; E. Ki67 -ის ექსპრესია G3 უმწიფარი ტერატომის ნეიროეპითელის კომპონენტი 400X, IHC;

კორელაციური ანალიზი: Spearman-ის კორელაციის ანალიზმა გამოავლინა მნიშვნელოვანი კორელაციური კავშირები ამ იმუნოჰისტოქიმიურ მარკერებს შორის;

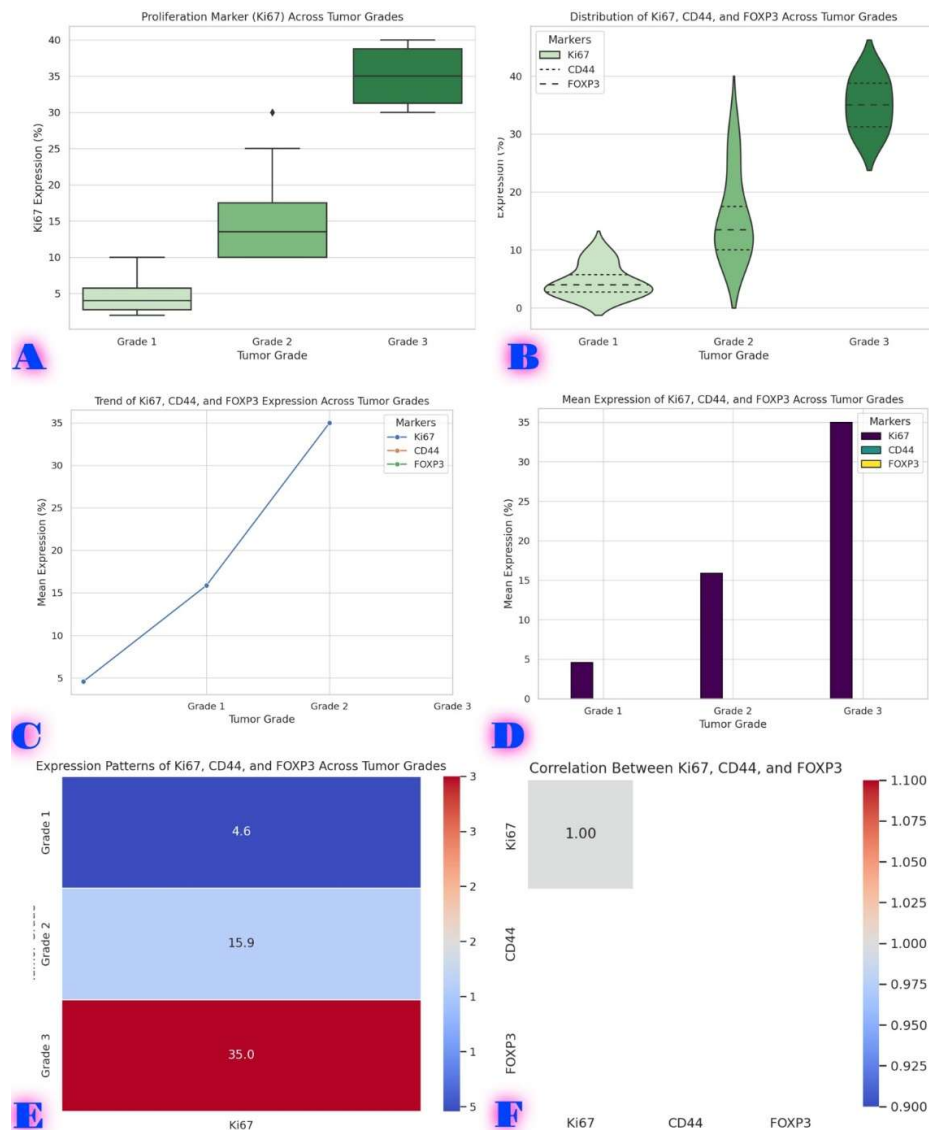
Ki67 და CD44 ($r = 0.72$, $p < 0.01$) → მაღალი პროლიფერაციის მქონე სიმსივნეებს უფრო მეტი ღეროვან უჯრედული ფენოტიპური მახასიათებლები აქვთ;

Ki67 და FOXP3 ($r = 0.68$, $p < 0.01$) → უფრო მაღალი პროლიფერაცია ასოცირდება იმუნური სისტემის მეტ დათრგუნვასთან.

CD44 და FOXP3 ($r = 0.65$, $p < 0.05$) → ღეროვან უჯრედული ფენოტიპი და იმუნური სისტემისაგან გასხლტომის მექანიზმები შეიძლება იყოს დაკავშირებული სიმსივნის აგრესიულობასთან;

საკვლევე კოჰორტას შორის, ორ შემთხვევას 1 წლიანი დაკვირვების პერიოდში განუვითარდა პერიტონეალური მეტასტაზები, ორივე კლასიფიცირებულია, როგორც G3 ხარისხის უმწიფარი ტერატომა. Ki67, CD44 და FOXP3 ექსპრესია მნიშვნელოვნად მაღალი იყო მეტასტაზურ დაზიანებების მქონე შემთხვევებში ($p < 0.01$), რაც კიდევ ერთხელ მიუთითებს ამ მარკერების როლზე მეტასტაზური პოტენციალის შესაფასებლად. საინტერესოა, რომ CD44 და FOXP3 განსაკუთრებით მაღალი ხარისხით ექსპრესირებული იყო მეტასტაზურ ნიმუშებში.

გადარჩენა და პროგნოზული ანალიზი: კაპლან-მაიერის გადარჩენადობის ანალიზმა აჩვენა, რომ G3 ხარისხის სიმსივნეებს ჰქონდათ მნიშვნელოვნად უფრო ცუდი გადარჩენის მაჩვენებელი (პროგრესირების გარეშე PFS) G1 და G2 ხარისხის სიმსივნეებთან შედარებით (ლოგი-რანგის ტესტი, $p < 0.001$). Ki67 და CD44-ის გაზრდილი ექსპრესია ასოცირებული იყო უფრო ხანმოკლე გადარჩენის პერიოდთან PFS-თან ($p < 0.05$). ეს დასკვნები ხაზს უსვამს საკვლევის უმწიფარ ტერატომებში Ki67, CD44 და FOXP3-ის როგორც დამოუკიდებელი პროგნოზული მარკერების პოტენციალს.



დიაგრამა 13: A. პროლიფერაციული მარკერი Ki67-ის განაწილება სხვადასხვა საკვლევ ჯგუფებში ; B. Ki67, CD44-ისა და FOXP3-ის განაწილება სხვადასხვა ჰისტოლოგიური გრეიდების მიხედვით ; C. იმუნოჰისტოქიმიური მარკერების განაწილების ტენდენცია შესწავლილ ჯგუფებში ჰისტოლოგიური დიფერენციაციის ხარისხის მიხედვით ; D. შესწავლილი იმუნოჰისტოქიმიური მარკერების საშუალო მაჩვენებლის განაწილება სხვადასხვა ჰისტოლოგიურ გრეიდის მიხედვით; E. Ki67, CD44-ისა და FOXP3-ის ექსპრესიის პატერნები სხვადასხვა გრეიდის უმწიფარ ტერატომაში; F. კორელაციური განაწილება Ki67, CD44-ისა და FOXP3-ის შესწავლილ კოჰორტაში;

განსჯა

პროლიფერაცია და სიმსივნის აგრესიულობა (Ki67): Ki67-ის ექსპრესიის მნიშვნელოვანი ზრდა G1 ხარისხის სიმსივნეიდან G3 ხარისხის სიმსივნემდე ადასტურებს მის, როგორც სიმსივნის აგრესიულობის საიმედო მარკერის როლს. დადებითი კორელაცია Ki67-სა და მიტოზურ ინდექსს შორის ($r = 0.79$, $p < 0.01$) მიგვითითებს იმაზე, რომ Ki67-ის უფრო მაღალი ექსპრესია ასოცირდება სიმსივნური უჯრედების გაყოფასთან, რაც აძლიერებს მის მნიშვნელობას მაღალი რისკის სიმსივნეების სტრატეფიკაციაში. Ki67-ის გაზრდილი ექსპრესიის დონე მეტასტაზურ შემთხვევებში კიდევ უფრო ადასტურებს მის სარგებლობას სიმსივნის პროგრესირების პროგნოზირებაში. ეს დასკვნები ემთხვევა ჩანასახოვანი უჯრედების სიმსივნეებზე არსებულ კვლევებს, სადაც Ki67-მა აჩვენა, რომ კორელაციაშია ცუდ შედეგებთან და გაზრდილ რეციდივის რისკთან.

CD44 როგორც ღეროვან უჯრედული და ინვაზიურობის მარკერი: CD44, უჯრედის ადჰეზიისა და ღეროვანი ფენოტიპის მარკერი, ავლენს ძლიერ კავშირს სიმსივნის ხარისხთან, მნიშვნელოვნად მაღალი ექსპრესიით G2 და G3 ხარისხის სიმსივნეებში G1 ხარისხთან შედარებით ($p < 0.01$). CD44-დადებით სიმსივნურ უჯრედებს შეიძლება გააჩნდეთ გაძლიერებული მიგრაციული და ინვაზიური შესაძლებლობები, რაც ხელს უწყობს დაავადების პროგრესირებას. კორელაცია CD44-სა და Ki67-ს შორის ($r = 0.72$, $p < 0.01$) დამატებით გულისხმობს, რომ პროლიფერაციული სიმსივნეები ავლენენ უფრო ღეროვან, თერაპიისადმი მდგრად ფენოტიპს, რაც შეესაბამება სხვა საკვლევის ჩანასახოვანი უჯრედების სიმსივნეებსა და ეპითელიური ავთვისებიანი სიმსივნეების კვლევებს[18].

CD44 მაღალი ექსპრესია მეტასტაზურ დაზიანებებში ხაზს უსვამს სიმსივნის გავრცელებაში მის პოტენციურ როლს, რადგან ცნობილია, რომ CD44 ხელს უწყობს უჯრედგარე მატრიქსის ურთიერთქმედებას, სიმსივნის მოძრაობასა და აპოპტოზისადმი წინააღმდეგობას. ეს მხარს უჭერს ჰიპოთეზას, რომ CD44-ის გამოხატული სუბპოპულაციები შეიძლება იყოს პასუხისმგებელი სიმსივნის მდგრადობაზე და რეციდივზე, რაც მას პერსპექტიულ თერაპიულ სამიზნედ აქცევს აგრესიული უმწიფარი ტერატომებისთვის.

FOXP3, მარეგულირებელი T უჯრედების ძირითადი მარკერი (Tregs), მნიშვნელოვნად გაიზარდა G3 ხარისხის სიმსივნეებსა და მეტასტაზურ დაზიანებებში ($p < 0.01$), რაც მიუთითებს იმაზე, რომ იმუნური აცილება გადამწყვეტ როლს თამაშობს უმწიფარი

ტერატომების პროგრესირებაში. FOXP3-სა და CD44-ს შორის კორელაცია ($r = 0.65$, $p < 0.05$) ვარაუდობს, რომ ღეროვანი სიმსივნური უჯრედები შეიძლება გამოიყენებულ იქნას იმუნური დათრგუნვის მექანიზმებში, რათა თავიდან აიცილონ მასპინძლის იმუნური პასუხები, ფენომენი, რომელიც ჩვეულებრივ შეინიშნება მაღალი ხარისხის ავთვისებიან სიმსივნეებში[6].

მიუხედავად იმისა, რომ ეს კვლევა იძლევა ახალ შეხედულებებს Ki67, CD44-ისა და FOXP3-ის ექსპრესიის შესახებ უმწიფარ ტერატომებში, გარკვეული შეზღუდვები უნდა იყოს ხაზგასმული: კოჰორტის ზომა – მიუხედავად იმისა, რომ ჩვენი კოჰორტა იძლევა ღირებულ მონაცემებს, ამ დასკვნების დასადასტურებლად საჭიროა უფრო დიდი მრავალინსტიტუციური კვლევები; მოლეკულური პროფილის ნაკლებობა - ღეროვანი და იმუნური გზების გენეტიკური და ტრანსკრიპტომიური ანალიზის საფუძველზე შეიძლება კიდევ უფრო გაიზარდოს სიმსივნის აგრესიულობის საფუძველში არსებული მექანიზმები; დაკვირვების შეზღუდული ხანგრძლივობა - საჭიროა გახანგრძლივებული კლინიკური დაკვირვება გრძელვადიანი გადარჩენისა და რეციდივის შესაფასებლად.

მომავალი კვლევა ფოკუსირებული უნდა იყოს მოლეკულური და იმუნური პროფილის ინტეგრირებაზე სტანდარტულ დიაგნოსტიკურ სამუშაოებში, განსაკუთრებული აქცენტით CD44 და FOXP3, როგორც პოტენციური თერაპიული სამიზნეები.

დასკვნა

ჩვენი კვლევა ავლენს საკვერცხის უმწიფარ ტერატომებში Ki67, CD44-ისა და FOXP3-ის როგორც საკვანძო მარკერების კლინიკურ მნიშვნელობას, რაც უზრუნველყოფს ახალ შეხედულებებს სიმსივნის პროლიფერაციის, ღეროვან უჯრედული ბუნებისა და იმუნური ზედამხედველობის აცილების მექანიზმების შესახებ. Ki67 დასტურდება, როგორც საკვერცხის უმწიფარი ტერატომების პროლიფერაციისა და პროგრესირების ძლიერი სარწმუნო მარკერი, CD44, როგორც ღეროვან უჯრედული ბუნებისა და გაზრდილი ინვაზიურობის მარკერი, ხოლო FOXP3, როგორც ახლად მოწოდებული იმუნური სუპრესიის არსებობის შეფასების მარკერი, რომელიც თავის მხრივ დაკავშირებულია სიმსივნის აგრესიულობასთან.

ჩვენი დასკვნები ხაზს უსვამს აგრესიულად მიმდინარე უმწიფარ ტერატომებში, სიმსივნის ღეროვან უჯრედულობისა და იმუნური ზედამხედველობიდან აცილების მექანიზმების ფენომენის მნიშვნელობას და მისი ახალი დამიზნებითი თერაპიული საშუალებებით მკურნალობის პოტენციალს. ჩვენი კვლევის შედეგები მხარს უჭერს Ki67, CD44 და FOXP3-ის რუტინულად გამოყენებას პაციენტთა პროგნოზის, რისკის სტრატეგიკაციისა და ზოგადი პერსონალიზირებული თერაპიული მკურნალობის საშუალებების გასაუმჯობესებლად.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] H. Amsalem, M. Nadjari, D. Prus, N. Hiller, and A. Benshushan, "Growing teratoma syndrome vs. chemotherapeutic retroconversion: Case report and review of the literature," *Gynecol Oncol*, vol. 92, no. 1, pp. 357–360, 2004, doi: 10.1016/J.YGYNO.2003.10.024.
- [2] L. Zagamé, P. Pautier, P. Duvillard, D. Castaigne, C. Patte, and C. Lhommé, "Growing teratoma syndrome after ovarian germ cell tumors," *Obstetrics and Gynecology*, vol. 108, no. 3, pp. 509–514, 2006, doi: 10.1097/01.AOG.0000231686.94924.41.
- [3] R. Hariprasad, L. Kumar, D. Janga, S. Kumar, and M. Vijayaraghavan, "Growing teratoma syndrome of ovary," *Int J Clin Oncol*, vol. 13, no. 1, pp. 83–87, Feb. 2008, doi: 10.1007/S10147-007-0693-7.
- [4] F. André et al., "The growing teratoma syndrome: Results of therapy and long-term follow-up of 33 patients," *Eur J Cancer*, vol. 36, no. 11, pp. 1389–1394, Jul. 2000, doi: 10.1016/S0959-8049(00)00137-4.
- [5] 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.
- [6] P. Zhorzholiani, Z. Bokhua, S. Kepuladze, and G. Burkadze, "Assessment of FOXP3+ Expression in Endometrial Precancerous and Neoplastic Lesions: A Comparative Study of Immune Microenvironment Dynamics," *ქართველი მეცნიერები*, vol. 7, no. 1, pp. 50–63, Jan. 2025, doi: 10.52340/gs.2025.07.01.06.
- [7] R. Devadze, A. Gvenetadze, G. Burkadze, and S. Kepuladze, "Features of distribution of intratumoral lymphocytes in ovarian epithelial tumours of different histological types and degree of malignancy," *ქართველი მეცნიერები*, vol. 4, no. 5, pp. 383–393, Dec. 2022, doi: 10.52340/gs.2022.04.05.42.
- [8] N. Tavdgiridze, G. Tevdorashvili, S. Kepuladze, and G. Burkadze, "ASSESSMENT OF PROLIFERATIVE ACTIVITY OF IMMATURE OVARIAN TERATOMAS USING AgNOR TECHNOLOGY," *ქართველი მეცნიერები*, vol. 5, no. 1, pp. 233–248, Mar. 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.01.20.
- [9] L. Barbakadze, N. Kintraia, G. Burkadze, and S. Kepuladze, "ASSESSMENT OF PROLIFERATIVE ACTIVITY OF ENDOMETRIAL STROMAL TUMORS USING AgNOR TECHNOLOGY," *ქართველი მეცნიერები*, vol. 5, no. 2, pp. 123–133, May 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.02.16.
- [10] T. Turashvili, G. Tevdorashvili, G. Burkadze, and S. Kepuladze, "Evaluation of proliferative activity of endometrial metaplasias by AgNor technology," *ქართველი მეცნიერები*, vol. 5, no. 3, pp. 10–20, Jul. 2023, doi: 10.52340/2023.05.03.02.
- [11] N. Adamashvili, R. Beriashvili, N. Tevzadze, S. Kepuladze, and G. Burkadze, "Features of the distribution of acute and chronic inflammatory index in cervical intraepithelial neoplasia of different

degrees and its relationship with proliferative activity detected by AgNOR technology,” ქართველი მეცნიერები, vol. 6, no. 1, pp. 45–57, Jan. 2024, doi: 10.52340/gS.2024.06.01.08.

[12] “Cancer Stem Cell Markers Are Differentially Expressed in Malignant Ovarian Germ Cell Tumors - PubMed.” Accessed: Mar. 05, 2025. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37186896/>

[13] T. Hu et al., “Clinical management of malignant ovarian germ cell tumors: A 26-year experience in a tertiary care institution,” Surg Oncol, vol. 31, pp. 8–13, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.suronc.2019.08.006.

[14] G. E. Esheba, L. L. Pate, and T. A. Longacre, “Oncofetal protein glypican-3 distinguishes yolk sac tumor from clear cell carcinoma of the ovary,” American Journal of Surgical Pathology, vol. 32, no. 4, pp. 600–607, Apr. 2008, doi: 10.1097/PAS.0b013e31815a565a.

[15] S. M. Kraggerud et al., “Molecular characteristics of malignant ovarian germ cell tumors and comparison with testicular counterparts: Implications for pathogenesis,” Endocr Rev, vol. 34, no. 3, pp. 339–376, Jun. 2013, doi: 10.1210/er.2012-1045.

[16] O. Solheim, M. Førsum, C. G. Tropé, S. M. Kraggerud, J. M. Nesland, and B. Davidson, “Epithelial–mesenchymal transition markers in malignant ovarian germ cell tumors,” APMIS, vol. 125, no. 9, pp. 781–786, Sep. 2017, doi: 10.1111/apm.12715.

[17] H. Matsushita, K. Arai, M. Fukase, T. Takayanagi, and H. Ikarashi, “Growing teratoma syndrome of the ovary after fertility-sparing surgery and successful pregnancy,” Gynecol Obstet Invest, vol. 69, no. 4, pp. 221–223, Jun. 2010, doi: 10.1159/000273205.

[18] S. Kikawa, Y. Todo, S. Minobe, K. Yamashiro, H. Kato, and N. Sakuragi, “Growing teratoma syndrome of the Ovary: A case report with FDG -PET findings,” Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, vol. 37, no. 7, pp. 926–932, Jul. 2011, doi: 10.1111/J.1447-0756.2010.01439.X.

Ki67, CD44, and FOXP3 as Prognostic Markers in Ovarian Immature Teratomas: Implications for Tumor Aggressiveness and Metastasis

N. Tavdgiridze; G.Tevdorashvili; Sh.Kepuladze; G.Burkadze

Tbilisi State Medical University

Abstract

Background: Ovarian immature teratomas are rare germ cell tumours with varying neuroepithelial differentiation and malignant potential. Identifying reliable prognostic markers remains a challenge in clinical practice. This study evaluates the role of Ki67 (proliferation), CD44 (stemness), and FOXP3 (immune suppression) as key indicators of tumour aggressiveness, progression, and metastatic potential.

Methods: A retrospective immunohistochemical study was conducted on 26 cases of ovarian immature teratomas diagnosed between 2015 and 2025. Tumours were graded according to the WHO classification, and Ki67, CD44, and FOXP3 expression was analysed using semi-quantitative scoring. Correlation analysis was performed between markers and tumour characteristics, including necrosis, tumour-infiltrating lymphocytes (TILs), and mitotic index. Statistical significance was determined using Spearman's correlation, Kruskal-Wallis test, and Kaplan-Meier survival analysis.

Results: Ki67 expression increased significantly with tumour grade (median: 12% in Grade 1, 35% in Grade 2, and 65% in Grade 3; $p < 0.001$), correlating with higher mitotic index and increased tumour aggressiveness. CD44 expression followed a similar trend (8% in Grade 1, 42% in Grade 2, 78% in Grade 3; $p < 0.01$), suggesting that highly proliferative tumours exhibit stem-like, invasive properties. FOXP3 expression was significantly elevated in Grade 3 tumours and metastatic cases (5% in Grade 1, 25% in Grade 2, 58% in Grade 3; $p < 0.01$), indicating a role in immune evasion. Correlation analysis revealed strong associations between Ki67 and CD44 ($r = 0.72$, $p < 0.01$), Ki67 and FOXP3 ($r = 0.68$, $p < 0.01$), and CD44 and FOXP3 ($r = 0.65$, $p < 0.05$), suggesting that proliferation, stemness, and immune suppression work synergistically to drive tumour progression.

Conclusion: Ki67, CD44, and FOXP3 are independent prognostic markers in immature ovarian teratomas, with Ki67 linked to tumour proliferation, CD44 to stemness and invasiveness, and FOXP3 to immune evasion mechanisms. Their combined role in tumour progression and metastasis suggests potential therapeutic targets, mainly through immune-modulating and anti-stemness strategies. This study underscores the need for further research into targeted approaches for high-risk cases. It supports the inclusion of these markers in routine pathological assessment to refine prognostic stratification and treatment planning.

Keywords: Ovarian immature teratoma, Ki67, CD44, FOXP3, tumour proliferation, tumour stemness, immune suppression, prognosis, metastasis

ავტორების შესახებ დამატებითი ინფორმაცია:

ნინო თავდგირიძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის PhD

სტუდენტი;

Nino Tavdgiridze - PhD student at Tbilisi State Medical University,

E-mail: ninotavdgiridze@gmail.com

George Tevdorashvili - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის მეანობა-გინეკოლოგიის კათედრის ასოცირებული პროფესორი;

George Tevdorashvili – Associate Professor at Tbilisi State Medical University Department of obstetrics and gynaecology

Email: doc.tevdorashvili@gmail.com

შოთა კეპულაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ექიმი

პათოლოგანტომი; მედიცინის აკადემიური დოქტორი;

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

E-mail: shota.kepuladze@gmail.com

Phone Number: +995 598297600

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

Phone Number: 599578833

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