

ჰორმონული რეცეპტორებისა და პროლიფერაციულ-აპოპტოზური მარკერების ექსპრესიის თავისებურებები საშვილოსნოს ადენომიოზის, ენდომეტრიოზისა და ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის შემთხვევებში:

რეტროსპექტული იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა

ბექა მეტრეველი, დავით გაგუა, შოთა კეპულაძე, გიორგი ბურკაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

ადენომიოზი და ენდომეტრიოზი არის ჰორმონულ ექსპრესიაზე დამოკიდებული პათოლოგიური პროცესები, რომლებიც ხასიათდება ექტოპიური ენდომეტრიუმის პროლიფერაციით. მიუხედავად იმისა, რომ ტრადიციულად განიხილება კეთილთვისებიანი მიმდინარეობის დაზიანებებად, ატიპიური ენდომეტრიოზი ავლენს ჰისტოპათოლოგიურ და მოლეკულურ მახასიათებლებს, რომლებიც დაკავშირებულია სიმსივნურ ტრანსფორმაციასთან, განსაკუთრებით ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის განვითარებაში. ეს კვლევა აფასებს ER, PR, Ki67, BCL2 და P53-ის იმუნოჰისტოქიმიურ ექსპრესიას ეუტოპიურ ენდომეტრიუმში, ადენომიოზში (ექტოპიურ ენდომეტრიუმში), ენდომეტრიოზში, ატიპიურ ენდომეტრიოზსა და ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომაში.

კვლევის ფარგლებში სულ რეტროსპექტულად შესწავლილია 77 შემთხვევა. იმუნოჰისტოქიმია (IHC) ჩატარდა Leica Bond-ის ავტომატური შედეგების სისტემის გამოყენებით ER (SP1), PR (16), Ki67 (MIB-1), BCL2 (124) და P53 (DO-7) ანტისხეულებით. ექსპრესიის დონეები რაოდენობრივად შეფასდა და სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა ჯგუფებში მარკერის ექსპრესიის შესადარებლად. კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ER-ისა და PR-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად შემცირდა ეუტოპიური ენდომეტრიუმიდან კარცინომამდე ($p < 0.0001$), ატიპიური ენდომეტრიოზი ავლენდა რეცეპტორების უფრო დაბალ ექსპრესიას, ვიდრე ტიპიური ენდომეტრიოზი ($p = 0.002$); Ki67 მნიშვნელოვნად გაიზარდა ატიპიური ენდომეტრიოზის დროს ($p = 0.004$) და ყველაზე მაღალი დაფიქსირდა კარცინომის შემთხვევებში ($p < 0.0001$), რაც მიუთითებს პროგრესირებისას პროლიფერაციულ აქტივობის მატებაზე; BCL2-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად დაბალი იყო ატიპიური ენდომეტრიოზისა და კარცინომის შემთხვევებში ($p < 0.0001$), რაც მიუთითებს აპოპტოზური რეზისტენტობის დისრეგულაციაზე; P53-ის ჭარბი ექსპრესია დაფიქსირდა ატიპიური ენდომეტრიოზის დროს

($p = 0.002$) და შემდგომ გაიზარდა კარცინომაში ($p < 0.0001$), რაც მხარს უჭერს ავთვისებიანი ტრანსფორმაციაში მის როლს.

საკვანძო სიტყვები: ადენომიოზი, ენდომეტრიოზი, ატიპიური ენდომეტრიოზი, ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომა, ჰორმონული რეცეპტორები, ესტროგენის რეცეპტორი, პროგესტერონის რეცეპტორი, Ki67, BCL2, P53, პროლიფერაცია, აპოპტოზი;

შესავალი

ადენომიოზი და ენდომეტრიოზი არის ენდომეტრიუმის ჰორმონ-დამოკიდებული დაზიანებები, რომელიც აღენიშნება რეპროდუქციული ასაკის ქალების დაახლოებით 20-35%-ს. ეს პათოლოგიები ხშირად ხელს უწყობს მენჯის ქრონიკული ტკივილის სინდრომს, მენორაგიას და უნაყოფობას, რაც მნიშვნელოვნად მოქმედებს ცხოვრების ხარისხსა და რეპროდუქციულ ფუნქციებზე [1], [2]. ორივე დარღვევა მოიცავს ენდომეტრიუმის ჯირკვლებისა და სტრომის ექტოპურ გამრავლებას, ადენომიოზის დროს მიომეტრიუმის ინფილტრაციით, ხოლო ენდომეტრიოზი ხდება საშვილოსნოს გარეთ, ძირითადად საკვერცხეებში, პერიტონეუმსა და მენჯის ღრმა რბილ ქსოვილებში. მიუხედავად მათი განსხვავებული ანატომიური მდებარეობისა, ადენომიოზი და ენდომეტრიოზი იზიარებენ საერთო პათოფიზიოლოგიურ მექანიზმებს, როგორიცაა ჰორმონული დისბალანსი, ანთებითი რეაქციები და პროლიფერაციული ცვლილებები [3].

მიუხედავად იმისა, რომ ადენომიოზი და ენდომეტრიოზი ტრადიციულად განიხილება კეთილთვისებიან დაზიანებებად, კლინიკური კვლევის შედეგად დაგროვილი მზარდი მტკიცებულების საფუძველზე მკვლევარები ვარაუდობენ, რომ ზოგიერთ შემთხვევაში აქვს მოლეკულური და ჰისტოლოგიური მახასიათებლები, რომლებიც დაკავშირებულია ნეოპლაზიურ ტრანსფორმაციასთან. ეპიდემიოლოგიური კვლევები აჩვენებს, რომ საკვერცხის ენდომეტრიოზის შემთხვევების 1-2% ვითარდება ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ საკვერცხის კარცინომაში, უპირატესად ენდომეტრიოიდულ კარცინომაში [3].

ატიპიური ენდომეტრიოზი, წინამორბედი დაზიანებაა, რომელსაც ახასიათებს ციტოლოგიური ატიპია, ჯირკვლების ამომჟღავნებელი ეპითელიუმის სტრუქტურული და გაზრდილი პროლიფერაციული აქტივობა, გამოვლენილია ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის შემთხვევების 40-50%-ში. ანალოგიურად, ბოლოდროინდელმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ატიპიურმა ადენომიოზმა შეიძლება განიცადოს ავთვისებიანი ტრანსფორმაცია, თუმცა მისი ავთვისებიანი პოტენციალი ნაკლებად არის შესწავლილი. გარკვეული ჰისტოპათოლოგიური კვლევები აღნიშნავს კავშირს ადენომიოზსა და ენდომეტრიუმის კარცინომას შორის შემთხვევების 8-10%-ში, განსაკუთრებით ქალებში ხანგრძლივი ჰიპერესტროგენული პირობებით [4].

ერთ-ერთი კრიტიკული მექანიზმი, რომელიც გავლენას ახდენს ენდომეტრიოზისა და ადენომიოზის პროგრესირებაზე, არის ჰორმონული რეცეპტორების დისრეგულაცია. ესტროგენის რეცეპტორები (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორები (PR) მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ენდომეტრიუმის ქსოვილის დიფერენციაში და ჰორმონულ

წინასწარგანწყობებში. შემცირებული ER და PR-ის ექსპრესია ექტოპურ ენდომეტრიუმში კლინიკურად დაკავშირებულია მკურნალობის წარუმატებლობასთან, რაც მთავარი კლინიკური გამოწვევაა ენდომეტრიოზის ჰორმონულ თერაპიაში[5], [6].

Ki67, როგორც უჯრედული პროლიფერაციის კარგად დამკვიდრებული მარკერი, დაკავშირებულია დაავადების აგრესიულ ქცევასთან და ავთვისებიანობისკენ პროგრესირებასთან. Ki67-ის ჭარბი ექსპრესია ხშირად შეინიშნება ატიპური ენდომეტრიოზისა და ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის დროს, კვლევები აჩვენებს Ki67-ის ექსპრესიის 2-დან 5-ჯერ ზრდას ავთვისებიან შემთხვევებში კეთილთვისებიან დაზიანებებთან შედარებით [7].

აპოპტოზური დისრეგულაცია ენდომეტრიუმის პათოლოგიისა და ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის კიდევ ერთი დამახასიათებელი ნიშანია. BCL2, ანტი-აპოპტოზური ცილა, ჩვეულებრივ ჭარბად არის ექსპრესირებული ჰორმონებით განპირობებული ენდომეტრიუმის დარღვევების დროს, რაც ხელს უწყობს უჯრედების გადარჩენას და მკურნალობის რეზისტენტობას. თუმცა, ბოლოდროინდელი აღმოჩენები ვარაუდობენ, რომ BCL2-ის ექსპრესია მცირდება ატიპური და ნეოპლაზიური ენდომეტრიოზის დროს, რაც მიუთითებს ცვლის აპოპტოზურ დისრეგულაციასა და სიმსივნურ პოტენციალს. სიმსივნის სუპრესორი P53, გენის სტაბილურობის მთავარი რეგულატორი, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ენდომეტრიუმის ქსოვილებში ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის პრევენციაში. ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომების 30-50%-მდე ავლენს P53-ის ცვალებად ექსპრესიას, რაც მიუთითებს მის მონაწილეობაზე ადრეულ ონკოგენურ ცვლილებებში[8], [9].

ჩვენი კვლევა მიზნად ისახავს ER, PR, Ki67, BCL2 და P53-ის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის შეფასებას ეუტოპიურ ენდომეტრიუმში, ექტოპიურ ენდომეტრიუმში ანუ ადენომიოზში, ენდომეტრიოზში, ატიპიურ ენდომეტრიოზსა და ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომაში. ჰორმონული რეცეპტორების სტატუსის, პროლიფერაციული აქტივობის, აპოპტოზური რეგულაციისა და სიმსივნის სუპრესიის ექსპრესიის ანალიზით, ჩვენ ვცდილობთ გავარკვიოთ პროგრესირება და მაღალი რისკის დაზიანებების ადრეული გამოვლენის პოტენციური მარკერები. ამ კვლევის შედეგებმა შეიძლება მოგვაწოდოს ღირებული ინფორმაცია ენდომეტრიოზისა და ადენომიოზის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის მექანიზმების შესახებ, პოტენციური შედეგებით რისკის სტრატეგიკაციისა და პერსონალიზებული მკურნალობის მიდგომებზე.

მასალა და მეთოდები

კვლევის დიზაინი და ნიმუშების შერჩევა: კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტულ კოჰორტულ კვლევას, რომლის ფარგლებშიც განხორციელდა საარქივო მასალების მოძიება, ფორმალინში ფიქსირებული და პარაფინით ჩაყალიბებული (FFPE) ენდომეტრიუმის ქსოვილის სხვადასხვა ნოზოლოგიების შემთხვევები. ქსოვილის ნიმუშები შეგროვდა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიის სასწავლო, სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის ბაზაზე. კვლევის მასალები მიღებულია ჰისტერექტომიის, ბიოფსიისა და

კიურეტაჟის პროცედურებიდან. ჩართვის კრიტერიუმია ადეკვატური ქსოვილი და დადასტურებული ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზი.

სულ გამოყენებული იყო 77 შემთხვევა, რომლებიც დაყოფილია შემდეგნაირად:

- ადენომიოზი (ექტოპური ენდომეტრიუმი) (n = 21);
- ეუტოპიური ენდომეტრიუმი - საკონტროლო ჯგუფი (n = 17);
- ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომა (n = 16);
- ენდომეტრიოზი (ექტოპური ენდომეტრიუმი) (n = 14);
- ატიპიური ენდომეტრიოზი (n = 9)

იმუნოჰისტოქიმია (IHC) ჩატარდა 4 μ m სისქის FFPE ანათლებზე Leica Bond-III IHC ავტომატური შეღებვის სისტემის გამოყენებით (Leica Biosystems, გერმანია). გამოყენებული იქნა შემდეგი პირველადი ანტისხეულები, კლონები და განზავება:

მარკერი	კლონი	მწარმოებელი	ლოკალიზაცია	განზავება
ER (Estrogen Receptor)	SP1	Leica Biosystems	ბირთვული	1:200
PR (Progesterone Receptor)	16	Leica Biosystems	ბირთვული	1:200
Ki67 (Proliferation Marker)	MIB-1	Leica Biosystems	ბირთვული	1:100
BCL2 (Anti-apoptotic Marker)	124	Leica Biosystems	ციტოპლაზმური	1:150
P53 (Tumor Suppressor)	DO-7	Leica Biosystems	ბირთვული	1:100

ცხრილი 5: კვლევაში გამოყენებული იმუნოჰისტოქიმიური ანტისხეულები შესაბამისი მომწოდებლის, კლონის, სამუშაო ხსნარის განზავებითა და ექსპრესიის ჩვეული ლოკალიზაციის მიითითებით;

იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვის შეფასება განხორციელდა ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად ორი პათოლოგანატომის მიერ. იმუნოჰისტოქიმიური ტექნოლოგიით მაკრერების ER, PR, Ki67 და P53-ის ექსპრესია შეფასდა შეღებილი ბირთვული ექსპრესიის პროცენტის საფუძველზე, ხოლო BCL2 ექსპრესია შეფასებული იყო ციტოპლაზმური შეღებვის ინტენსივობის საფუძველზე

შეფასების კრიტერიუმები:

ER და PR ექსპრესია: კლასიფიცირებული, როგორც მაღალი ($\geq 70\%$), ზომიერი (30-70%), დაბალი ($< 30\%$), ან უარყოფითი ($< 5\%$);

Ki67 პროლიფერაციული ინდექსი: კატეგორიზებული, როგორც დაბალი ($< 10\%$), ზომიერი (10-20%) ან მაღალი ($> 20\%$).

P53 ექსპრესია: განიხილება ბუნებრივი ტიპის (Wild type) და პოზიტიური ($> 10\%$);

BCL2 ექსპრესია: შეფასებული ნახევრად რაოდენობრივად შედეგის ინტენსივობის საფუძველზე (სუსტი, ზომიერი ან ძლიერი).

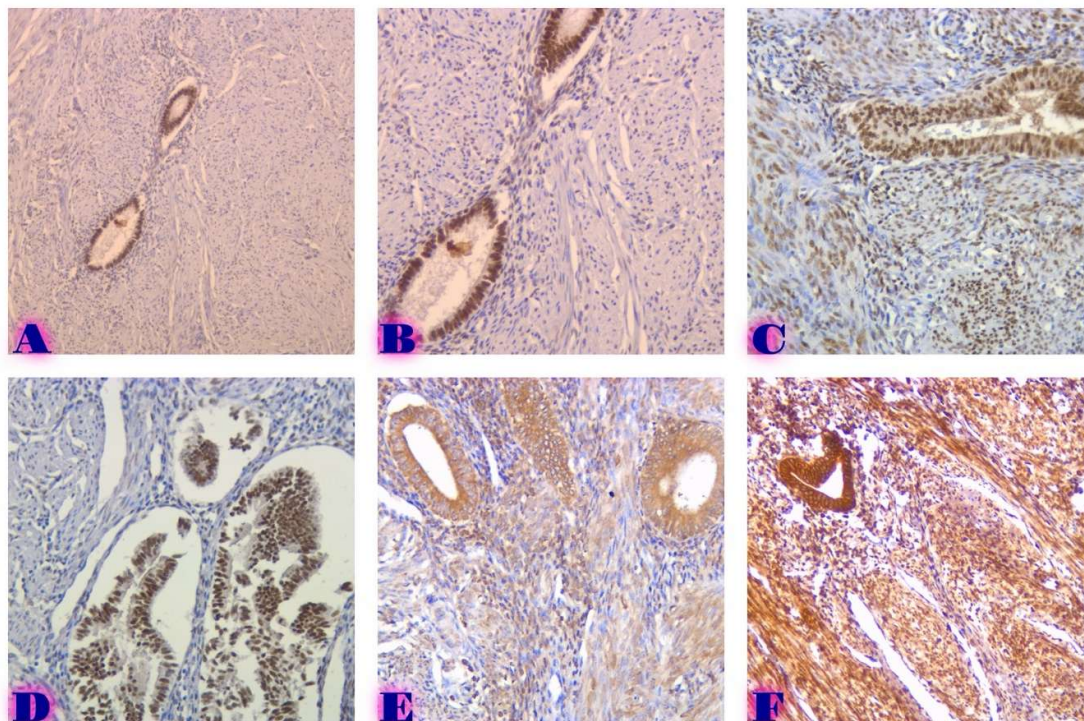
სტატისტიკური ანალიზი: მონაცემები სტატისტიკურად გაანალიზებულია SPSS-ის გამოყენებით (ვერსია V, IBM, აშშ). ჯგუფებს შორის არაპარამეტრული შედარებისთვის გამოყენებული იქნა კრუსკალ-ვალის და მან-უიტნის ტესტები. სპირმანის კორელაციის ანალიზი ჩატარდა ჰორმონული რეცეპტორების ექსპრესიის, პროლიფერაციული მარკერებისა და აპოპტოზური მარკერების ურთიერთკავშირის შესაფასებლად. სტატისტიკურად სარწმუნო მნიშვნელობად განისაზღვრა $p < 0.05$.

შედეგები

ესტროგენის რეცეპტორის (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორის (PR) ექსპრესია მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ჰისტოლოგიურ ჯგუფებს შორის ($p < 0.0001$ ორივე მარკერისთვის, კრუსკალ-ვალისის ტესტი). ეუტოპიურმა ენდომეტრიუმმა აჩვენა ყველაზე მაღალი ER-ის ექსპრესია (საშუალოდ: $81.47 \pm 2.94\%$, დიაპაზონი: 80-90%) და PR-ის ექსპრესია (საშუალოდ: $89.71 \pm 1.21\%$, დიაპაზონი: 85-90%), რაც მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ყველა სხვა ჯგუფთან შედარებით ($p < 0.0001$, ანალიზის შემდეგ).

ამის საპირისპიროდ, ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომის შემთხვევებმა აჩვენა ყველაზე დაბალი ER-ის ექსპრესია (საშუალოდ: $28.13 \pm 4.03\%$, დიაპაზონი: 20-30%) და PR-ის ექსპრესია (საშუალოდ: $37.50 \pm 5.77\%$, დიაპაზონი: 20-40%), რაც მიუთითებს ჰორმონული ექსპრესიის მნიშვნელოვან დაკარგვაზე.

ადენომიოზურმა დაზიანებებმა შეინარჩუნა ზომიერი ER-ის პოზიტიურობა (საშუალოდ: $60.95 \pm 3.01\%$), მაგრამ აჩვენა შესამჩნევი შემცირება PR-ის (საშუალოდ: $63.57 \pm 3.58\%$), რაც მნიშვნელოვნად დაბალი იყო ვიდრე ეუტოპიური ენდომეტრიუმში ($p < 0.0001$), მაგრამ უფრო მაღალი ვიდრე ენდომეტრიოზში (0.0001). ენდომეტრიოზულმა დაზიანებებმა აჩვენა ER და PR-ის ექსპრესიის შემდგომი შემცირება (საშუალო ER: $39.64 \pm 2.37\%$, PR: $30.71 \pm 1.81\%$), ატიპიური ენდომეტრიოზი აჩვენებდა ოდნავ უფრო მაღალ ER ექსპრესიას (საშუალოდ: $44.44 \pm 1.67\%$), ვიდრე ტიპიური ენდომეტრიოზი ($p < 0.0001$).



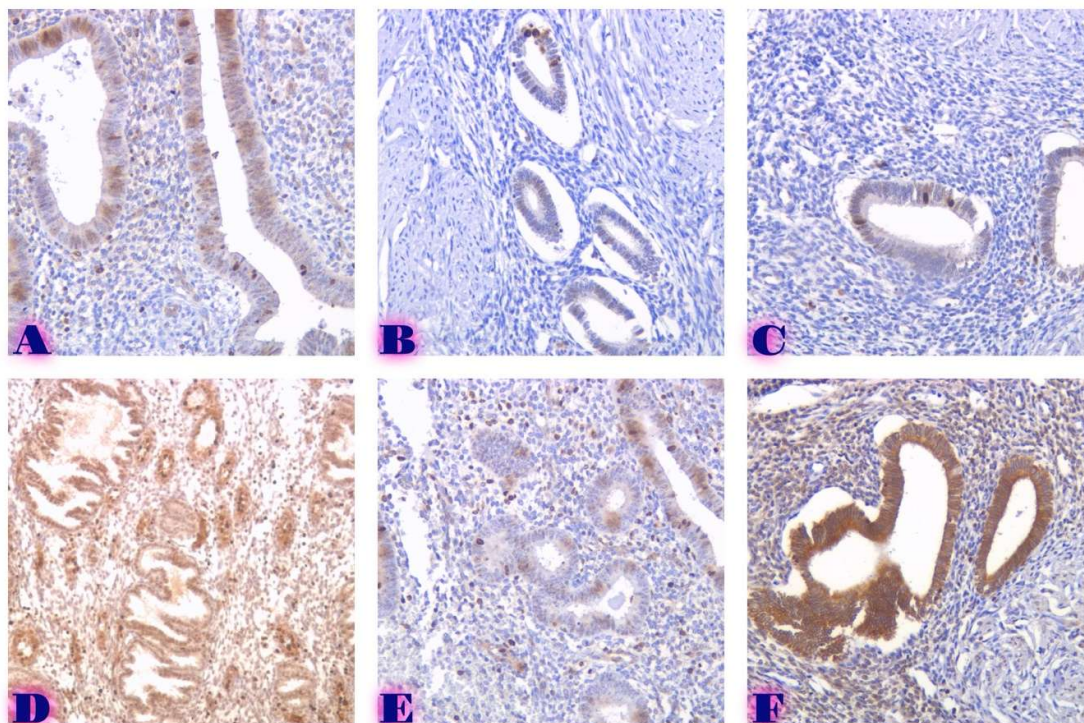
სურათი 6: A. ER-ის რეცეპტორის ექსპრესია ადენოკარცინომის შემთხვევაში 400X IHC ; B. PR-ის რეცეპტორის ექსპრესია ადენოკარცინომის შემთხვევაში 400X IHC ; C. . ER-ის რეცეპტორის ექსპრესია ენდომეტრიოზის შემთხვევაში 400X IHC; D. . ER-ის რეცეპტორის ექსპრესია ატიპური ენდომეტრიოზის შემთხვევაში 400X IHC ; E. BCL2-ის ექსპრესია ატიპური ენდომეტრიოზის შემთხვევაში 400X IHC ; F. BCL2-ის ექსპრესია ადენოკარცინომის შემთხვევაში 400X IHC .

Ki67-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა საკვლევ ჯგუფებში ($p < 0.0001$). ეუტოპიურმა ენდომეტრიუმმა აჩვენა Ki67-ის ყველაზე დაბალი ექსპრესია (საშუალოდ: $2,65 \pm 0,49\%$, დიაპაზონი: 2-3%), ხოლო ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის შემთხვევებმა აჩვენა ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული ინდექსი (საშუალოდ: $21,25 \pm 3,42\%$, დიაპაზონი: 15-30%), რაც მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ყველა სხვა ჯგუფთან შედარებით ($0-0p < 0$) ანალიზი).

ატიპურმა ენდომეტრიოზმა აჩვენა მნიშვნელოვნად მაღალი Ki67-ის ინდექსი (საშუალოდ: $15.56 \pm 1.67\%$) ტიპურ ენდომეტრიოზთან შედარებით (საშუალოდ: $15.36 \pm 1.34\%$, $p = 0.04$), რაც შემდგომში მხარს უჭერს მის კლასიფიკაციას, როგორც პროლიფერაციულად აქტიურ დაზიანებად პრე-ავთვისებიანი პოტენციალით. ადენოკარცინომურმა დაზიანებებმა აჩვენა დაბალი Ki67-ის ინდექსი (საშუალოდ: $7.43 \pm 1.21\%$), მნიშვნელოვნად დაბალი, ვიდრე ენდომეტრიოზული და ატიპური ენდომეტრიოზის შემთხვევები ($p = 0.002$).

BCL2-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ჯგუფებს შორის ($p < 0.0001$). ენდომეტრიოზულმა დაზიანებებმა აჩვენა BCL2-ის ყველაზე მაღალი ექსპრესია (საშუალოდ: $19,29 \pm 1,82\%$), რაც მნიშვნელოვნად აღემატებოდა ეუტოპიურ ენდომეტრიუმს (საშუალოდ: $8,24 \pm 2,46\%$, $p = 0,003$) და ადენოკარცინომას (საშუალოდ: $14,52 \pm 1,00\%$).

ატიპიურმა ენდომეტრიოზმა აჩვენა BCL2-ის მნიშვნელოვნად დაბალი ექსპრესია (*საშუალოდ: $6.11 \pm 3.33\%$) ტიპიურ ენდომეტრიოზთან შედარებით ($p = 0.004$), რაც მიუთითებს ავთვისებიან დაზიანებად ტრანსფორმაციის პროცესში შემცირებულ აპოპტოზურ წინააღმდეგობაზე. ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის შემთხვევებმა აჩვენა BCL2-ის ყველაზე დაბალი ექსპრესია (საშუალოდ: $1.88 \pm 5.44\%$), მნიშვნელოვნად დაბალი, ვიდრე ყველა სხვა ჯგუფის ($p < 0.0001$), რაც მიუთითებს ავთვისებიანი პროგრესირების აპოპტოზურ დისრეგულაციაზე.



სურათი 7: A. Ki67-ის ექსპრესია ადენომიოზის შემთხვევაში 400X IHC; B. Ki67-ის ექსპრესია ენდომეტრიოზის შემთხვევაში 400X IHC; C. P53-ის ექსპრესია ადენომიოზის შემთხვევაში 400X IHC; D. P53-ის ექსპრესია ატიპურ ენდომეტრიოზის შემთხვევაში 400X IHC; E. Ki67-ის ექსპრესია ადენოკარცინომაზე ასოცირებული ადენომიოზის შემთხვევაში 400X IHC; F. BCL2-ის ექსპრესია ადენომიოზის შემთხვევაში 400X IHC;

P53-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა საკვლევ ჯგუფებში ($p < 0.0001$). P53 არ ფიქსირდებოდა ეუტოპიურ ენდომეტრიუმში (0%) და დაბალი მაჩვენებლი გვხვდებოდა ადენომიოზის შემთხვევებში (საშუალოდ: $1.67 \pm 4.56\%$), რაც მიუთითებს იმაზე, რომ სიმსივნის სუპრესორის დაკარგვა არ გვხვდება ამ პირობებში.

ატიპიურმა ენდომეტრიოზმა აჩვენა P53 ყველაზე მაღალი ექსპრესია კეთილთვისებიან დაზიანებებს შორის (საშუალოდ: $21.11 \pm 2.20\%$), მნიშვნელოვნად მაღალი ვიდრე ტიპიური ენდომეტრიოზი (საშუალოდ: $10.71 \pm 1.82\%$, $p = 0.002$), რაც მიუთითებს ადრეულ მოლეკულურ ცვლილებებზე, რომლებიც დაკავშირებულია კანცინოგენეზთან. ეს ტენდენცია გაგრძელდა ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომის შემთხვევებში, სადაც P53 ექსპრესია გაიზარდა (საშუალოდ: $17.81 \pm 6.05\%$), რაც აჩვენებდა მნიშვნელოვან ჭარბ ექსპრესიას კეთილთვისებიან დაზიანებებთან შედარებით ($p < 0.0001$).

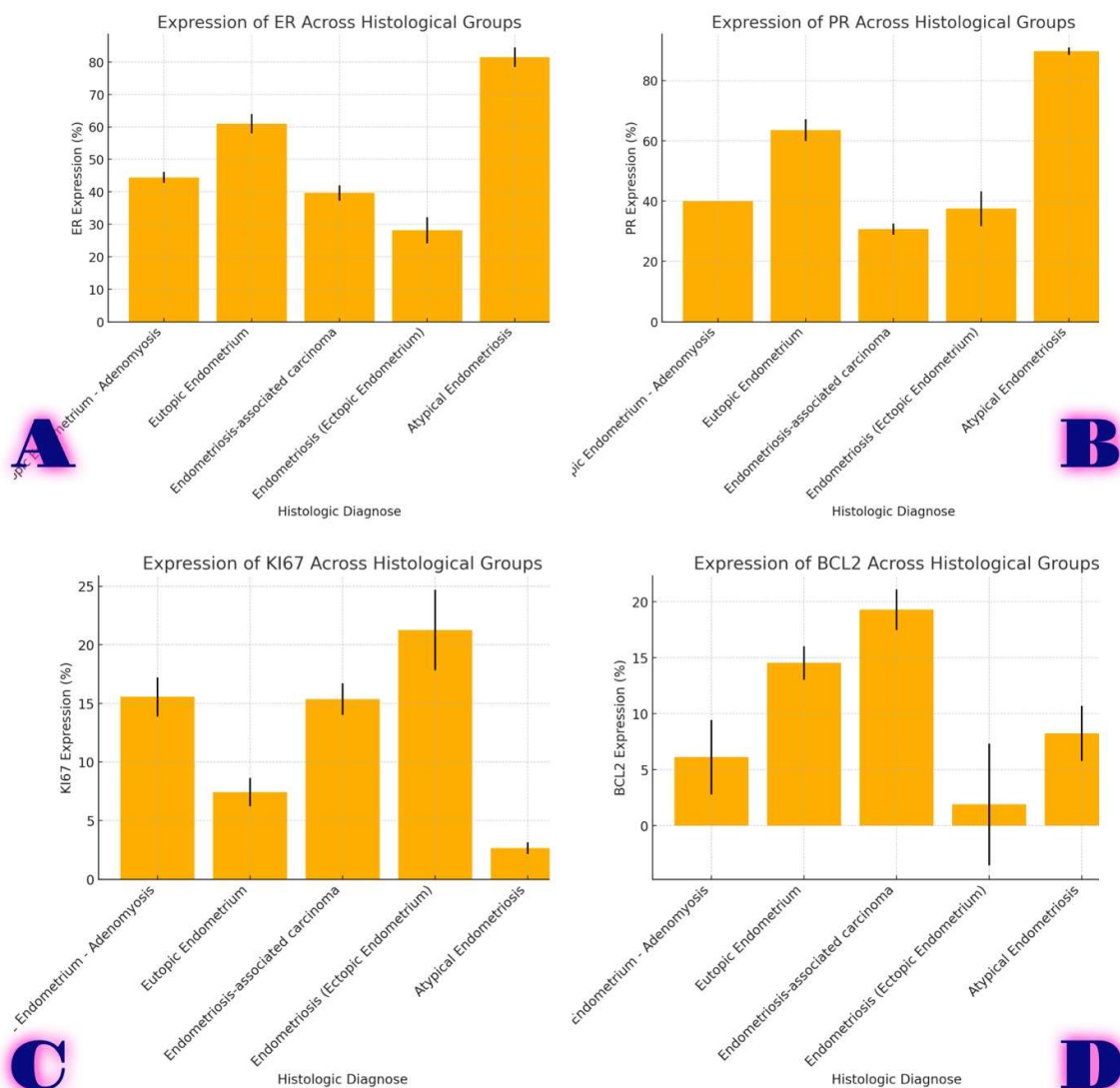
განსჯა

წინამდებარე კვლევა გთავაზობთ ჰორმონული რეცეპტორების ექსპრესიის, პროლიფერაციის ინდექსის, აპოპტოზური რეგულაციისა და სიმსივნის სუპრესორული ცვლილებების ანალიზს ადენომიოზის, ენდომეტრიოზის, ატიპიური ენდომეტრიოზისა და ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის შემთხვევებში. დასკვნები ხელს უწყობს მტკიცებულებების მზარდ ჯგუფს, რომლებიც ავლენენ გარკვეულ პირობებში ენდომეტრიუმის პათოლოგიების ავთვისებიანი ტრანსფორმაციად პროგრესირებას.

ჩვენმა კვლევამ აჩვენა ER და PR-ის ექსპრესიის პროგრესული დაკარგვა ეუტოპიური ენდომეტრიუმიდან ენდომეტრიოზამდე და ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომამდე, ატიპიური ენდომეტრიოზის შემთხვევებში მნიშვნელოვანი შემცირებით ტიპურ ენდომეტრიოზთან შედარებით ($p < 0.002$). ეს ტენდენცია ემთხვევა წინა კვლევებს, როგორცაა **Xue et al. (2020)**, რომელმაც აღნიშნა ჰორმონული რეცეპტორების დაქვეითება, როგორც ღრმა ინფილტრაციული ენდომეტრიოზისა და ატიპიური ენდომეტრიოზული დაზიანებების ძირითადი მახასიათებელი [10].

ადენომიოზის შემთხვევები აჩვენებდა ზომიერ ER და PR ექსპრესიის დონეს, მნიშვნელოვნად დაბალს ვიდრე ეუტოპიური ენდომეტრიუმი ($p < 0.0001$), მაგრამ უფრო მაღალს ვიდრე ენდომეტრიოზული დაზიანებები ($p = 0.002$). ეს მხარს უჭერს ჰიპოთეზას, რომ ადენომიოზი ინარჩუნებს ჰორმონულ რეაქციის გარკვეულ ხარისხს, მაგრამ განიცდის რეცეპტორების პროგრესირებად დაკარგვას, განსაკუთრებით ღრმა ადენომიოზურ კერებში, როგორც აღწერილია **Tibonshi et al. (2021)** კვლევაში [11].

Ki67 პროლიფერაციის ინდექსმა აჩვენა მნიშვნელოვანი ეტაპობრივი ზრდა ეუტოპიური ენდომეტრიუმიდან (საშუალოდ: 2.65%) ენდომეტრიოზამდე და (საშუალოდ: 15.36%) ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომამდე (საშუალოდ: 21.25%, $p < 0.0001$). აღსანიშნავია, რომ ატიპურმა ენდომეტრიოზმა აჩვენა მნიშვნელოვნად მაღალი Ki67-ის ინდექსი, ვიდრე ტიპური ენდომეტრიოზი ($p = 0.004$), რაც აძლიერებს მის პროლიფერაციულად აქტიურ ბუნებას და ავთვისებიანად პროგრესიის პოტენციალს.



დიაგრამა 14: A. ER-ის რეცეპტორის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში; B. PR-ის რეცეპტორის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში; C. Ki67-ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში; D. BCL2-ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში.

საინტერესოა, რომ ადენომიოზის შემთხვევებმა აჩვენა შედარებით დაბალი Ki67 ინდექსი (საშუალოდ: 7.43%), მნიშვნელოვნად დაბალი ვიდრე ენდომეტრიოზული დაზიანებებში ($p = 0.002$), რაც მიუთითებს იმაზე, რომ პროლიფერაციული აქტივობა ნაკლებად გამოხატულია ადენომიოზის დროს. ეს შეესაბამება Kyo et al-ის დასკვნებს. (2021), რომელმაც აღნიშნა, რომ ადენომიოზი ძირითადად გამოწვეულია ქრონიკული ანთებითა და ფიბროზით და არა ჯირკვლის სწრაფი პროლიფერაციით [12].

BCL2, ანტი-აპოპტოზური მარკერი, ექსპრესირებული იყო ენდომეტრიოზულ დაზიანებებში (საშუალოდ: 19.29%), რაც მნიშვნელოვნად აღემატებოდა ეუტოპიურ ენდომეტრიუმსა და ადენომიოზურ შემთხვევებს ($p = 0.003$, $p = 0.01$, შესაბამისად). თუმცა, BCL2-ის ექსპრესია

მნიშვნელოვნად შემცირდა ატიპიურ ენდომეტრიოზის შემთხვევებში ($p = 0.004$), რაც ასახავს აპოპტოზურ დისრეგულაციას პრეავთვისებთან ტრანსფორმაციაში.

BCL2-ის ექსპრესიის პროგრესირებადი დაკარგვა ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომაში (საშუალოდ: 1.88%, $p < 0.0001$) შეესაბამება **Manda et al.** (2021) დასკვნებს[13]. რომელმაც აღნიშნა, რომ ენდომეტრიოზთან ასოცირებული საკვერცხის კარცინომა ხშირად ავლენს დეფექტებს აპოპტოზურ სასიგნალო გზებზე, მათ შორის BCL2 დათრგუნვითა და TP53 მუტაციებით.

ჩვენმა კვლევამ გამოავლინა P53 ექსპრესიის მნიშვნელოვანი ზრდა ატიპიურ ენდომეტრიოზის შემთხვევებში ტიპურ ენდომეტრიოზთან შედარებით ($p = 0.002$), შემდგომი ჭარბი ექსპრესიით ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომაში ($p < 0.0001$). ეს მხარს უჭერს ჰიპოთეზას, რომ P53 მუტაცია ხდება ატიპიური ენდომეტრიოზის ადრეულ ეტაპზე და ხელს უწყობს ავთვისებიანი ტრანსფორმაციას, როგორც ეს ადრე იყო აღწერილი **Koshia et al.** (2022)[14].

ეუტოპიურ ენდომეტრიუმსა და ადენომიოზში P53 ექსპრესიის არარსებობის საფუძველზე შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ P53 დისფუნქცია არ არის კეთილთვისებიანი ენდომეტრიუმის ანომალიების მთავარი მამოძრავებელი ფაქტორი, მაგრამ ხდება მნიშვნელოვანი ფაქტორი ატიპიური ენდომეტრიოზის სიმსივნურ პროგრესირებაში. ეს დასკვნები ეთანხმება **Yamamoto et.al** (2023), რომელმაც აღნიშნა, რომ P53 აბერაციები ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ ავთვისებიან სიმსივნეებში ხშირად თანაარსებობენ ARID1A და PTEN მუტაციებთან, რაც ქმნის განსხვავებულ მოლეკულურ გზას კარცინოგენეზში[15]

დასკვნა

ჩვენი კვლევა იმუნოჰისტოქიმიური ტექნოლოგიის გამოყენებით იძლევა დამატებით ინფორმაციას ჰორმონული რეცეპტორების დაქვეითების, გაზრდილი პროლიფერაციული აქტივობისა და აპოპტოზური დისრეგულაციის ცვლილებების შესახებ ადენომიოზის, ენდომეტრიოზის, ატიპიური ენდომეტრიოზისა და ენდომეტრიოზთან ასოცირებული კარცინომის შემთხვევებში. ჩვენი დასკვნები მხარს უჭერს კონცეფციას, რომ ატიპიური ენდომეტრიოზი ავლენს მოლეკულურ ცვლილებებს, რაც განასხვავებს მას ტიპური ენდომეტრიოზისგან, რაც თავის მხრივ მიუთითებს ავთვისებიანი პროგრესირების უფრო მაღალ რისკზე. ადენომიოზის შემთხვევებში ეუტოპიურ და ექტოპურ ენდომეტრიუმს შორის იმუნოჰისტოქიმიურმა შედარებამ გამოავლინა მნიშვნელოვანი განსხვავებები ჰორმონული რეცეპტორების ექსპრესიაში, ექტოპიური ადენომიოზური ჯირკვლები ავლენენ დაქვეითებულ ER და PR-ის ექსპრესიას ეუტოპიურ ენდომეტრიუმთან შედარებით. ეს მიუთითებს ჰორმონული რეზისტენტობისკენ გადასვლას ექტოპიური დაზიანებების დროს, რამაც შესაძლოა ჰორმონულ თერაპიაზე რეაგირების შემცირებას შეუწყოს ხელი.

ER და PR-ის ექსპრესიის მნიშვნელოვანი შემცირება ატიპურ ენდომეტრიოზსა და ენდომეტრიოზთან ასოცირებულ კარცინომაში ასევე მიუთითებს ჰორმონული რეზისტენტობის პოტენციურ მექანიზმზე, რომელსაც შესაძლოა ჰქონდეს გავლენა

მკურნალობის სტრატეგიებზე. Ki67 და P53-ის გაზრდილი ექსპრესია ატიპურ ენდომეტრიოზში, BCL2-ის დაქვეითებასთან ერთად, ავლენს მას როგორც აპოპტოზური დისრეგულირებით მიმდინარე პროლიფერაციულად აქტიურ დაზიანებად. Ki67-ის ექსპრესია მიუხედავად იმისა, რომ ზოგადად დაბალია ადენომიოზის შემთხვევებში, ოდნავ გაიზარდა ექტოპურ ადენომიოზურ ჯირკვლებში ეუტოპიურ ენდომეტრიუმთან შედარებით, რაც მიუთითებს პროლიფერაციული აქტივობის ლოკალიზებულ ზრდაზე. ეს დაკვირვება მხარს უჭერს მოსაზრებას, რომ ადენომიოზი არ არის მხოლოდ ენდომეტრიუმის ქსოვილის პასიური ექტოპიური იმპლანტაცია, არამედ შეიძლება გამოავლინოს ზრდის დინამიკის ცვლილება მიომეტრიულ გარემოში.

მიუხედავად იმისა, რომ ჩვენი კვლევა შემოიფარგლებოდა იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის ტექნოლოგიით, დასკვნები ხელს უწყობს ენდომეტრიოზისა და ადენომიოზის ბიოლოგიური ქცევის სიღრმისეულ გაგებას. საჭიროა შემდგომი კვლევა, მათ შორის მოლეკულური და გენომური კვლევები, დაავადების პროგრესირებისა და ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ძირითადი მექანიზმების უკეთ განსაზღვრისათვის. მაღალი რისკის ენდომეტრიოტული დაზიანებების ამოცნობა იმუნოჰისტოქიმიური პროფილის საშუალებით შეიძლება დაეხმაროს კლინიკისტებს რისკის სტრატეგიკაციასა და კლინიკურ მართვაში.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] Y. Cao et al., “Adenomyosis associated infertility: an update on immunological perspective,” *Reprod Biomed Online*, vol. 0, no. 0, p. 104703, Nov. 2024, doi: 10.1016/J.RBMO.2024.104703.
- [2] P. R. Koninckx, C. Meuleman, S. Demeyere, E. Lesaffre, and F. J. Cornillie, “Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain,” *Fertil Steril*, vol. 55, no. 4, pp. 759–765, 1991, doi: 10.1016/S0015-0282(16)54244-7.
- [3] J. Ottolina et al., “Endometriosis and Adenomyosis: Modern Concepts of Their Clinical Outcomes, Treatment, and Management,” *J Clin Med*, vol. 13, no. 14, p. 3996, Jul. 2024, doi: 10.3390/JCM13143996.
- [4] H. S. Taylor et al., “Treatment of Endometriosis-Associated Pain with Elagolix, an Oral GnRH Antagonist,” *New England Journal of Medicine*, vol. 377, no. 1, pp. 28–40, Jul. 2017, doi: 10.1056/NEJMOA1700089.
- [5] 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.

- [6] 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.
- [7] B. Metreveli, D. Gagua, G. Burkadze, and S. Kepuladze, "Proliferative characteristics of eutopic and ectopic endometrium in adenomyosis using AgNOR technology," *Georgian Scientists*, vol. 5, no. 1, pp. 59–71, Jan. 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.01.04.
- [8] S. Vannuccini, S. Clemenza, M. Rossi, and F. Petraglia, "Hormonal treatments for endometriosis: The endocrine background," *Rev Endocr Metab Disord*, vol. 23, no. 3, pp. 333–355, Jun. 2022, doi: 10.1007/S11154-021-09666-W.
- [9] P. T. K. Saunders and A. W. Horne, "Endometriosis: Etiology, pathobiology, and therapeutic prospects," *Cell*, vol. 184, no. 11, pp. 2807–2824, May 2021, doi: 10.1016/J.CELL.2021.04.041.
- [10] E. Chantalat et al., "Estrogen Receptors and Endometriosis," *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 8, p. 2815, Apr. 2020, doi: 10.3390/IJMS21082815.
- [11] S. E. Bulun, S. Yildiz, M. Adli, and J. J. Wei, "Adenomyosis pathogenesis: insights from next-generation sequencing," *Hum Reprod Update*, vol. 27, no. 6, pp. 1086–1097, Nov. 2021, doi: 10.1093/HUMUPD/DMAB017.
- [12] J. Zhai, S. Vannuccini, F. Petraglia, and L. C. Giudice, "Adenomyosis: Mechanisms and Pathogenesis," *Semin Reprod Med*, vol. 38, no. 2–03, p. 129, May 2020, doi: 10.1055/S-0040-1716687.
- [13] S. C. Steinbuch, A. M. Lüß, S. Eltrop, M. Götte, and L. Kiesel, "Endometriosis-Associated Ovarian Cancer: From Molecular Pathologies to Clinical Relevance," *Int J Mol Sci*, vol. 25, no. 8, p. 4306, Apr. 2024, doi: 10.3390/IJMS25084306.
- [14] D. Maeda and I. M. Shih, "Pathogenesis and the role of ARID1A mutation in endometriosis-related ovarian neoplasms," *Adv Anat Pathol*, vol. 20, no. 1, p. 45, Jan. 2013, doi: 10.1097/PAP.0B013E31827BC24D.
- [15] T. Akahane, A. Sekizawa, Y. Purwosunu, M. Nagatsuka, and T. Okai, "The role of p53 mutation in the carcinomas arising from endometriosis," *Int J Gynecol Pathol*, vol. 26, no. 3, pp. 345–351, Jul. 2007, doi: 10.1097/PGP.0B013E31802B41A8.

Expression patterns of hormone receptors and proliferative-apoptotic markers in cases of uterine adenomyosis, endometriosis, and endometriosis-associated carcinoma: a retrospective immunohistochemical study

B. Metreveli, G.Gagua, Sh.Kepuladze, G.Burkadze

Tbilisi State Medical University

Abstract

Background: Adenomyosis and endometriosis are estrogen-dependent disorders characterized by ectopic endometrial proliferation. While traditionally considered benign, atypical endometriosis exhibits histological and molecular features associated with neoplastic transformation, particularly in the development of endometriosis-associated carcinoma. This study evaluates the immunohistochemical expression of ER, PR, Ki67, BCL2, and P53 in eutopic endometrium, adenomyosis, endometriosis, atypical endometriosis, and endometriosis-associated carcinoma to assess their role in disease progression.

Methods: A total of 77 cases were retrospectively analyzed, including 21 adenomyosis, 17 eutopic endometrium, 14 endometriosis, 9 atypical endometriosis, and 16 endometriosis-associated carcinoma cases. Immunohistochemistry (IHC) was performed using Leica Bond-III automated staining system with ER (SP1), PR (16), Ki67 (MIB-1), BCL2 (124), and P53 (DO-7) antibodies. Expression levels were quantitatively assessed, and statistical analyses were conducted to compare marker expression across groups.

Results: ER and PR expression decreased significantly from eutopic endometrium to carcinoma ($p < 0.0001$), with atypical endometriosis exhibiting lower receptor expression than typical endometriosis ($p = 0.002$); Ki67 was significantly elevated in atypical endometriosis ($p = 0.004$) and highest in carcinoma ($p < 0.0001$), suggesting increased proliferative activity during progression; BCL2 expression was significantly lower in atypical endometriosis and carcinoma ($p < 0.0001$), indicating a shift from apoptotic resistance to dysregulation; P53 overexpression was observed in atypical endometriosis ($p = 0.002$) and further increased in carcinoma ($p < 0.0001$), supporting its role in malignant transformation.

Conclusion: Progressive hormonal receptor loss, increased proliferation, and apoptotic dysregulation were observed in atypical endometriosis and carcinoma, supporting the hypothesis that atypical endometriosis represents an intermediate stage toward malignancy. Immunohistochemical profiling of ER, PR, Ki67, BCL2, and P53 may aid in risk stratification and early identification of high-risk lesions. Further studies incorporating molecular and genomic analyses are warranted to refine the understanding of endometriosis-associated malignancies.

Keywords: Adenomyosis, Endometriosis, Atypical Endometriosis, Endometriosis-Associated Carcinoma, Hormonal Receptors, Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, Ki67, BCL2, P53, Proliferation, Apoptosis;

ავტორთა შესახებ ინფორმაცია

ბექა მეტრეველი - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი; გინეკოლოგი

Beka Metreveli – PhD Student at Tbilisi State medical University

Email: beka-metreveli@mail.ru

დავით გაგუა - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი;

Davit Gagua – Professor at Tbilisi State Medical University; Gynecologist

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

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>