

იმუნოჰისტოქიმიური მარკერების SOX2-ის, Ki67-ისა და p53-ის ექსპრესიის თავისებურებები ბარეტის საყლაპავის, დისპლაზიასა და ადენოკარცინომამდე პროგრესირებაში

პ. მეშველიანი¹; გ. დიდავა¹; გ. თომაძე¹; შ. კეპულაძე¹; გ. ბურკაძე¹

¹თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

ბარეტის საყლაპავი (BE) არის სიმსივნისწინარე მდგომარეობა, რომელიც საყლაპავის ადენოკარცინომამდე (EAC) პროგრესირებს სხვადასხვა ხარისხის დისპლაზიური ცვლილებების თანმიმდევრობით. მოლეკულური ცვლილებები, რომლებიც მონაწილეობს ამ ტრანსფორმაციაში, ბოლომდე არ არის კარგად შესწავლილი. ჩვენი კვლევა ავლენს SOX2, Ki67 და p53-ის ექსპრესიის თავისებურებებს ბარეტის საყლაპავის პროგრესირების სხვადასხვა ეტაპებზე იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის ტექნოლოგიის გამოყენებით. კვლევის ფარგლებში ჩატარებულია რეტროსპექტული კოჰორტული ანალიზი 90 ფორმალინში ფიქსირებულ და პარაფინით ჩაყალიბებულ (FFPE) ქსოვილის ნიმუშზე პაციენტებიდან, რომლებიც დიაგნოსტირებული იყვნენ ექვს საკვლევ ჯგუფად: ნორმალური საყლაპავის ბრტყელი ეპითელიუმი (n=15), რეფლუქსური დაავადება (n=15), არადისპლაზიური BE (n=15, მაღალი ხარისხის (n=15), დაბალი ხარისხის (n=15) დისპლაზია და საყლაპავის ადენოკარცინომა (EAC, n=15). კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ SOX2-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად შემცირდა დაავადების პროგრესირებასთან ერთად ($p < 0.001$), ძლიერი ექსპრესიით საყლაპავის ნორმალურ ეპითელიუმში ($58.3 \pm 4.8\%$) და თითქმის მთლიანი დაკარგვით EAC-ში. Ki67-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად გაიზარდა დისპლაზიურ და სიმსივნურ ქსოვილებში ($p < 0.001$), ყველაზე მაღალი დონე დაფიქსირდა HGD-ში ($38.3 \pm 4.8\%$). p53 ბირთვული ექსპრესია მინიმალური იყო ნორმალურ და არადისპლაზიურ BE-ში, მაგრამ მნიშვნელოვნად გაიზარდა HGD-ში ($35.0 \pm 11.2\%$) და პიკს მიაღწია EAC-ში ($53.3 \pm 9.7\%$) ($p < 0.001$), რაც მიუთითებს TP53 მუტაციის ჩართვაზე ავთვისებიან ტრანსფორმაციაში. კვლევის შედეგად არსებული მონაცემების საფუძველზე შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ SOX2-ის დაქვეითება ადრეული მოვლენაა BE-ში, რაც ხელს უწყობს ნაწლავის მეტაპლაზიას, ხოლო Ki67 და p53-ის ჭარბი ექსპრესია დაკავშირებულია დისპლაზიის პროგრესირებასთან. ეს ბიომარკერები შეიძლება იყოს სასარგებლო ინდიკატორები მაღალი რისკის მქონე პაციენტების იდენტიფიცირებისთვის, რომლებიც საჭიროებენ უფრო აქტიურ მეთვალყურეობას და მკურნალობის ადრეულ სტრატეგიებს.

საკვანძო სიტყვები: ბარეტის საყლაპავი; SOX2; Ki67; p53; საყლაპავის ადენოკარცინომა; დისპლაზია; სიმსივნის პროგრესირება;

შესავალი

ბარეტის საყლაპავი (BE) არის სიმსივნისწინარე მდგომარეობა, რომელიც ხასიათდება საყლაპავის დისტალური ნაწილის ნორმალური სტრუქტურული ბრტყელი ეპითელიუმის ჩანაცვლებით სპეციალიზებული ნაწლავის ტიპის უჯრედებით[1]. ეს მეტაპლაზიური ტრანსფორმაცია ხდება ქრონიკული გასტროეზოფაგური რეფლუქსით მიმდინარე დაავადების (GERD) საპასუხოდ, სადაც მუავა ნივთიერებების რეფლუქსის ხანგრძლივი ზემოქმედება იწვევს ლორწოვანის დაზიანებას და შემდგომ ეპითელიუმში ადაპტაციური რეაქციების გააქტიურებას[2]. BE არის მნიშვნელოვანი კლინიკური მდგომარეობა იმის გამო, რომ ის ასოცირდება საყლაპავის ადენოკარცინომის (EAC) განვითარების გაზრდილ რისკთან, რომელიც წარმოადგენს უაღრესად აგრესიულ ავთვისებიან სიმსივნეს ცუდი პროგნოზით. პროგრესია BE-დან EAC-მდე განპირობებულია გენეტიკური, ეპიგენეტიკური და გარემო ფაქტორების კომბინაციით, რაც მას ადრეული გამოვლენისა და ინტერვენციის სტრატეგიებისთვის კვლევის კრიტიკულად მნიშვნელოვან სამიზნედ აქცევს[3].

BE-ის პრევალენტობა შეფასებულია, როგორც 1-2%-მდე ზოგად პოპულაციაში, მკვეთრად მაღალი სიხშირით ქრონიკული GERD სიმპტომების მქონე პირებში. მდგომარეობა განსაკუთრებით გავრცელებულია დასავლურ პოპულაციებში, სადაც კვებისა და ცხოვრების წესის ფაქტორები ხელს უწყობს დაავადების განვითარების რისკის გაზრდას[4]. ეპიდემიოლოგიური მონაცემებით ვარაუდობენ, რომ BE უპირატესად აზიანებს მამაკაცებს, მამაკაცებისა და ქალების თანაფარდობით დაახლოებით 2:1. დიაგნოსტიკის მედიანური ასაკი არის 55-დან 65 წლამდე. BE-ს განვითარების რისკი იზრდება ასაკის მატებასთან ერთად. კავასილელებთან სხვა ეთნიკურ ჯგუფებთან შედარებით მეტად გვხვდება ეს დაზიანება[5]. ამის მიზეზი შესაძლოა იყოს პოტენციურად გენეტიკური მიდრეკილება და დიეტური ჩვეულებები. სიმსუქნე, განსაკუთრებით ცენტრალური სიმსუქნე, მტკიცედ არის დაკავშირებული BE-სთან ინტრააბდომინალური წნევის გაზრდის გამო, რაც ხელს უწყობს მჟავას რეფლუქსს და საყლაპავის ქრონიკულ ანთებას. დამატებითი რისკ-ფაქტორები მოიცავს ქრონიკულ მოწევას, ალკოჰოლის გადაჭარბებულ მოხმარებას და არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო საშუალებების (არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო საშუალებების) გახანგრძლივებულ გამოყენებას, თუმცა ზოგიერთ კვლევაში ვარაუდობენ, რომ ამ უკანასკნელს აქვს დამცავი ეფექტი. *Helicobacter pylori*-ის ინფექციის როლი კვლავ საკამათოა, ზოგიერთი მტკიცებულება მიუთითებს პოტენციურ დამცავ როლზე კუჭის მჟავის დათრგუნვის გზით, ზოგი კი მიუთითებს ანთების პროვოცირებაზე, რომელიც ხელს უწყობს დაავადების პროგრესირებას[6].

BE-ს პათოგენეზი მიჰყვება ეტაპობრივ პროცესს, რომელიც იწყება კუჭის მქავეს ქრონიკული ზემოქმედებით და ნაღვლის რეფლუქსით[7]. ეს მუდმივი გაღიზიანება იწვევს ოქსიდაციურ სტრესს, დნმ-ის დაზიანებას და ანთებით პასუხს, რაც იწვევს საყლაპავის ნორმალური ბრტყელ ეპითელიუმის ტრანსფორმაციას ნაწლავის სპეციალიზებულ მეტაპლაზიად. მეტაპლაზიურ ეპითელიუმზე გადასვლა მოიცავს რთულ სასიგნალო გზებს, მათ შორის ტრანსკრიპციის ფაქტორებით რეგულირებულ გზებს, როგორიცაა SOX2, CDX2 და GATA6. SOX2 გადამწყვეტ როლს ასრულებს ბრტყელი ეპითელიუმის იდენტობის შენარჩუნებაში და მისი დაქვეითება ასოცირდება ბრტყელუჯრედოვან დიფერენციაციის დაკარგვასთან და ნაწლავის მეტაპლაზიის გაჩენასთან. CDX2, პირიქით, ხელს უწყობს ნაწლავის დიფერენციაციას და რეგულირდება BE-ში, რაც ხელს უწყობს მეტაპლასტიკური ფენოტიპის მდგრადობას[8].

BE-ს პროგრესირება დისპლაზიამდე და საბოლოოდ EAC-მდე მოიცავს გენეტიკური ცვლილებების აკუმულირებას, მათ შორის TP53, SMAD4 და CDKN2A მუტაციებს. TP53 ფუნქციის დაკარგვა არის კრიტიკული მოვლენა დაბალი ხარისხის დისპლაზიიდან (LGD) მაღალი ხარისხის დისპლაზიაზე (HGD) გადასვლისას, რადგან ეს იწვევს უჯრედული ციკლის რეგულირების დარღვევას და გენომიურ არასტაბილურობას[9]. სხვა მოლეკულური მოვლენები, როგორიცაა ეპიგენეტიკური მოდიფიკაციები, ცვლილებები ქრომატინის რემოდელირების კომპლექსებში და ძირითადი ონკოგენური გზების დისრეგულაცია, განაპირობებს ნეოპლაზიურ ტრანსფორმაციას. პროლიფერაციის მარკერის Ki67-ის გაზრდილი ექსპრესია შეინიშნება დისპლაზიურ და ნეოპლასტიურ დაზიანებებში, რაც ხაზს უსვამს მის როლს ავთვისებიანი პროგრესირების დამახასიათებელ უჯრედულ ცვლილებებში [10], [11]. ანთებით გაშუალებული, ციტოკინებისა და სიმსივნის მიკროგარემოს ურთიერთქმედება ასევე ხელს უწყობს დაავადების პროგრესირებას, კლინიკური კვლევებზე დაყრდნობილი მტკიცებულებებით ვარაუდობენ, რომ იმუნური უჯრედების ინფილტრაცია და ფიბრობლასტების აქტივაცია მნიშვნელოვან როლს თამაშობს სიმსივნის წარმოქმნის ხელშეწყობაში[12].

ჰისტოპათოლოგიურად, BE კლასიფიცირდება მეტაპლაზიური ეპითელიუმში არსებული დისპლაზიის ხარისხის მიხედვით. არადისპლაზიური BE განისაზღვრება ნაწლავის მეტაპლაზიის არსებობით ციტოლოგიური ატიპიის გარეშე, ხოლო LGD ხასიათდება ბირთვების ზომის მსუბუქი მატებით, ჰიპერქრომაზიით და შენარჩუნებული ჯირკვლის არქიტექტურით[13]. HGD ავლენს მკვეთრ ბირთვულ პლეომორფიზმს, ჯირკვლის ორგანიზაციის დაკარგვას და გაზრდილ მიტოზურ აქტივობას, რაც მიუთითებს ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის უფრო მაღალ რისკზე. არადისპლაზიური BE-დან EAC-მდე პროგრესირების სავარაუდო წლიური რისკი მერყეობს 0.1-დან 0.5 პროცენტამდე, იზრდება 0.5-დან 1 პროცენტამდე LGD-ის შემთხვევაში და 7-დან 10 პროცენტამდე HGD-ში. TP53 მუტაციების არსებობა HGD-სა და EAC-ში ვარაუდობს, რომ ეს მოლეკულური ცვლილებები ავთვისებიანი პროგრესირების ადრეულ ინდიკატორებად გვევლინება[14].

ენდოსკოპიური მეთვალყურეობისა და BE-ს მოლეკულური დახასიათების მიღწევების მიუხედავად, დისპლაზიის განვითარების ზუსტი მექანიზმები რჩება არასრულად გაგებული.

ეპითელური ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში SOX2-ის გადამწყვეტი როლის გათვალისწინებით, BE-ში მისი დაქვეითება შეიძლება გახდეს გადამწყვეტი ბიომარკერი დაავადების პროგრესირების პროგნოზირებისთვის[15].

ჩვენი კვლევა მიზნად ისახავს შეაფასოს SOX2 ექსპრესია რეფლუქს ეზოფაგიტში, ბარეტის საყლაპავსა და საყლაპავის ადენოკარცინომის ადრეულ სტადიაში, Ki67-თან და p53-თან ერთად, რათა განისაზღვროს მათი როლი დისპლაზიის პროგრესირებაში[16]. ამ კვლევის შედეგებმა შეიძლება მოგვაწოდოს ახალი შეხედულებები მოლეკულური გზების შესახებ, რომლებიც წარმართავს BE-ს პროგრესირებას და რაც თავის მხრივ სამომავლოდ გამოავლენს დამიზნებით თერაპიულ სტრატეგიებს, რომლებიც მიმართულია ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის თავიდან ასაცილებლად.

მასალა და მეთოდები

კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტულ კოჰორტულ კვლევას, რომლის ფარგლებშიც გამოყენებულია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის (თსუ) პათოლოგიის სასწავლო სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის არქივიდან მოპოვებული ფორმალინში ფიქსირებული პარაფინით ჩაყალიბებული ქსოვილის ნიმუშები, რომელიც მოიცავს 2015 წლიდან 2025 წლამდე დიაგნოსტირებულ შემთხვევებს. სულ 90 შემთხვევა შეირჩა ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზის და კლინიკური მონაცემების ხელმისაწვდომობის საფუძველზე. საკვლევი ჯგუფები განისაზღვრა შემდეგნაირად: ნორმალური საყლაპავის ბრტყელი ეპითელიუმი (საკონტროლო ჯგუფი) (n=15), რეფლუქს დაავადება (n=15), არადისპლაზიური ბარეტის საყლაპავი (n=15), დაბალი ხარისხის დისპლაზია (n=15), მაღალი ხარისხის დისპლაზია (n=15) და საყლაპავის ადენოკარცინომა (n=15).

კვლევა დამტკიცებულია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკის კომიტეტის მიერ. კვლევის ფარგლებში უზრუნველყოფილი იყო ქსოვილის ყველა ნიმუშის ანონიმურობა პაციენტების კონფიდენციალურობის მაქსიმალურად შესანარჩუნებლად.

კლინიკური და დემოგრაფიული მონაცემების შეგროვება: პაციენტების ანამნეზური ჩანაწერები განიხილებოდა დემოგრაფიული და კლინიკური ინფორმაციის მოსაპოვებლად, მათ შორის ასაკი, სქესი, სხეულის მასის ინდექსი (BMI), მოწევის ისტორია, ალკოჰოლის მოხმარება, პროტონული ტუმბოს ინჰიბიტორების გამოყენება (PPIs) და *Helicobacter pylori* სტატუსი.

ქრონიკული ანთების ქულა შეფასდა ჰისტოლოგიურად და დაყოფილი იყო როგორც მსუბუქი, ზომიერი ან მძიმე, საყლაპავის ლორწოვანში ანთებითი უჯრედების ინფილტრაციის სიმკვრივის საფუძველზე.

ქსოვილის ანათომები დაიჭრა 4 მკმ-ის სისქეზე და შეღებილი იქნა ჰემატოქსილინით და ეოზინით (H&E) რუტინული ჰისტოლოგიური შეფასებისთვის. დიაგნოზი და დისპლაზიის ხარისხი დადასტურდა დადგენილი კრიტერიუმების გამოყენებით: დაბალი ხარისხის

დისპლაზიას ახასიათებდა ბირთვული ატიპია, შენარჩუნებული ჯირკვლოვანი არქიტექტურით; მაღალი ხარისხის დისპლაზიამ გამოავლინა ბირთვული პლეომორფიზმი, არქიტექტურული დეზორგანიზაცია და გაზრდილი მიტოზური აქტივობა;

იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) ანალიზი: IHC შედგება SOX2, Ki67 და p53-ისთვის განხორციელდა სტანდარტიზებული პროტოკოლების გამოყენებით. ქსოვილის ანათლებს ჩაუტარდა დეპარაფინიზაცია, რეჰიდრატაცია და ანტიგენის აღდგენა ციტრატის ბუფერის (pH 6.0) ან Tris-EDTA (pH 9.0) გამოყენებით. გამოყენებული იქნა შემდეგი პირველადი ანტისხეულები:

SOX2: მონოკლონური ანტისხეული (კლონი SC101; BioSB, კატალოგი #BSB-1086) 1:100 განზავებით.

Ki67: მონოკლონური ანტისხეული (კლონი MIB-1; Leica Biosystems, Catalog #NCL-L-Ki67-MM1) 1:200 განზავებით.

p53: მონოკლონური ანტისხეული (კლონი DO-7; Leica Biosystems, Catalog #NCL-L-p53-DO7) 1:100 განზავებით.

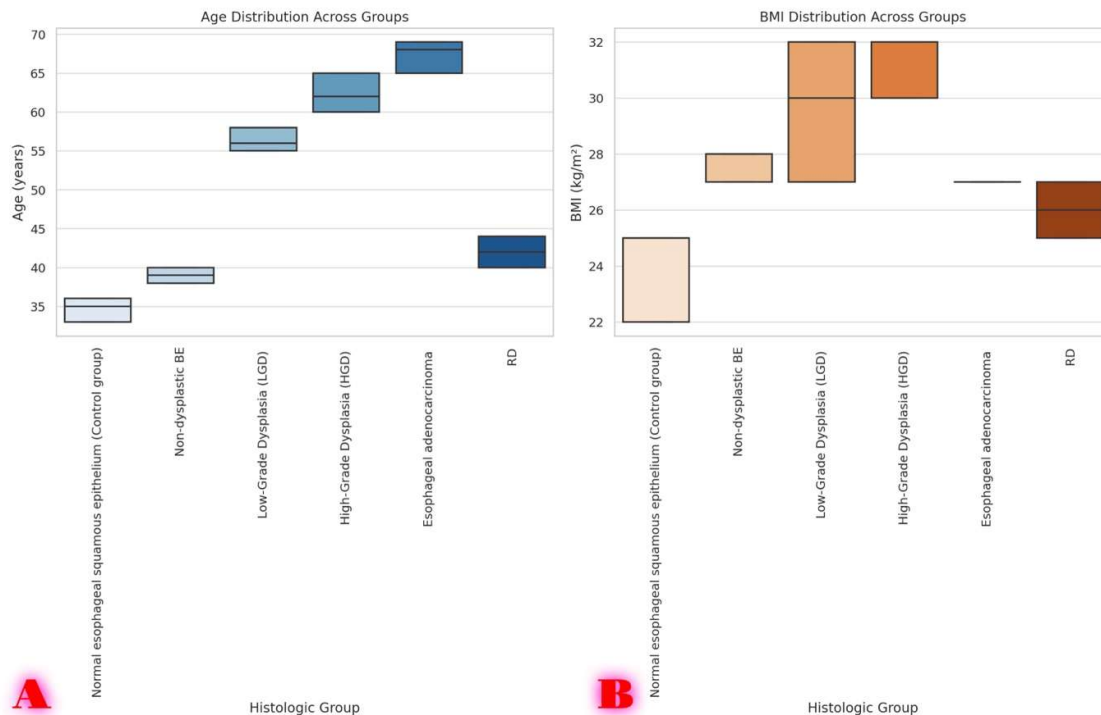
ორმა დამოუკიდებელმა პათოლოგანატომმა ნახევრად რაოდენობრივად შეაფასა IHC-ის ექსპრესია. SOX2 ექსპრესია შეფასებული იყო ბირთვული შეღებვის ინტენსივობის საფუძველზე და დაყოფილი იყო როგორც არარსებობა (0), სუსტი (1+; უჯრედების <10%), საშუალო (2+; უჯრედების 10-50%) ან ძლიერი (3+; უჯრედების >50%). Ki67 ექსპრესია შეფასდა, როგორც არარსებობა (0), სუსტი (1+; უჯრედების <10%), საშუალო (2+; უჯრედების 10-30%) ან ძლიერი (3+; უჯრედების >30%). p53 ექსპრესია კლასიფიცირებული იყო, როგორც არარსებობა (0), სუსტი (1+; უჯრედების <10%, ბუნებრივი ტიპის ექსპრესია), ზომიერი (2+; უჯრედების 10-50%, ჰეტეროგენული ნიმუში) ან ძლიერი (3+; უჯრედების >50%, გადაჭარბებული ექსპრესიის ნიმუში).

მონაცემთა ანალიზი ჩატარდა SPSS (ვერსია 25.0) ან (ვერსია 4.0.3) გამოყენებით. აღწერილობითი სტატისტიკა აჯამებდა პაციენტის დემოგრაფიულ და კლინიკურ მახასიათებლებს. კატეგორიული ცვლადები შედარება მოხდა chi-square ტესტის ან ფიშერის ზუსტი ტესტის გამოყენებით, ხოლო უწყვეტი ცვლადები გაანალიზებული იყო ANOVA ან კრუსკალ-ვალისის ტესტის გამოყენებით. Spearman-ის კორელაციის კოეფიციენტმა შეაფასა ასოციაციები SOX2, Ki67 და p53 ექსპრესიასა და დისპლაზიის სიმძიმეს შორის. p-მნიშვნელობა <0.05 ჩაითვალა სტატისტიკურად სარწმუნო.

შედეგები

ჩვენი კვლევის ფარგლებში სულ შესწავლილია 90 შემთხვევა, განაწილებული ექვს ჰისტოლოგიურ ჯგუფში: ნორმალური საყლაპავის ბრტყელი ეპითელიუმში (n=15), რეფლუქს-ეზოფაგიტი (n=15), არადისპლაზიური ბარეტის საყლაპავი (n=15), დაბალი ხარისხის დისპლაზია (n=15), მაღალი ხარისხის დისპლაზია 15 (n=15), საყლაპავის ადენოკარცინომა (n=15). პაციენტების საშუალო ასაკი მნიშვნელოვნად იცვლებოდა ჯგუფებში (p <0.001), ყველაზე დაბალი ასაკი დაფიქსირდა საყლაპავის ნორმალური ეპითელიუმის ჯგუფში (34.7 ±

1.3 წელი) და ყველაზე მაღალი საყლაპავის ადენოკარცინომის ჯგუფში (67.3 ± 1.8 წელი). სხეულის მასის ინდექსი (BMI) ასევე მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ჯგუფებს შორის ($p < 0.001$), ყველაზე მაღალი მნიშვნელობები აღინიშნა მაღალი ხარისხის დისპლაზიაში (30.7 ± 1.0 კგ/მ²) და ყველაზე დაბალი საყლაპავის ნორმალურ ეპითელიუმში (24.0 ± 1.5 კგ/მ²).



დიაგრამა 15: A. ასაკობრივი მონაცემების განაწილება საკვლევ ჯგუფებში; B. სხეულის მასის ინდექსის (BMI) განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

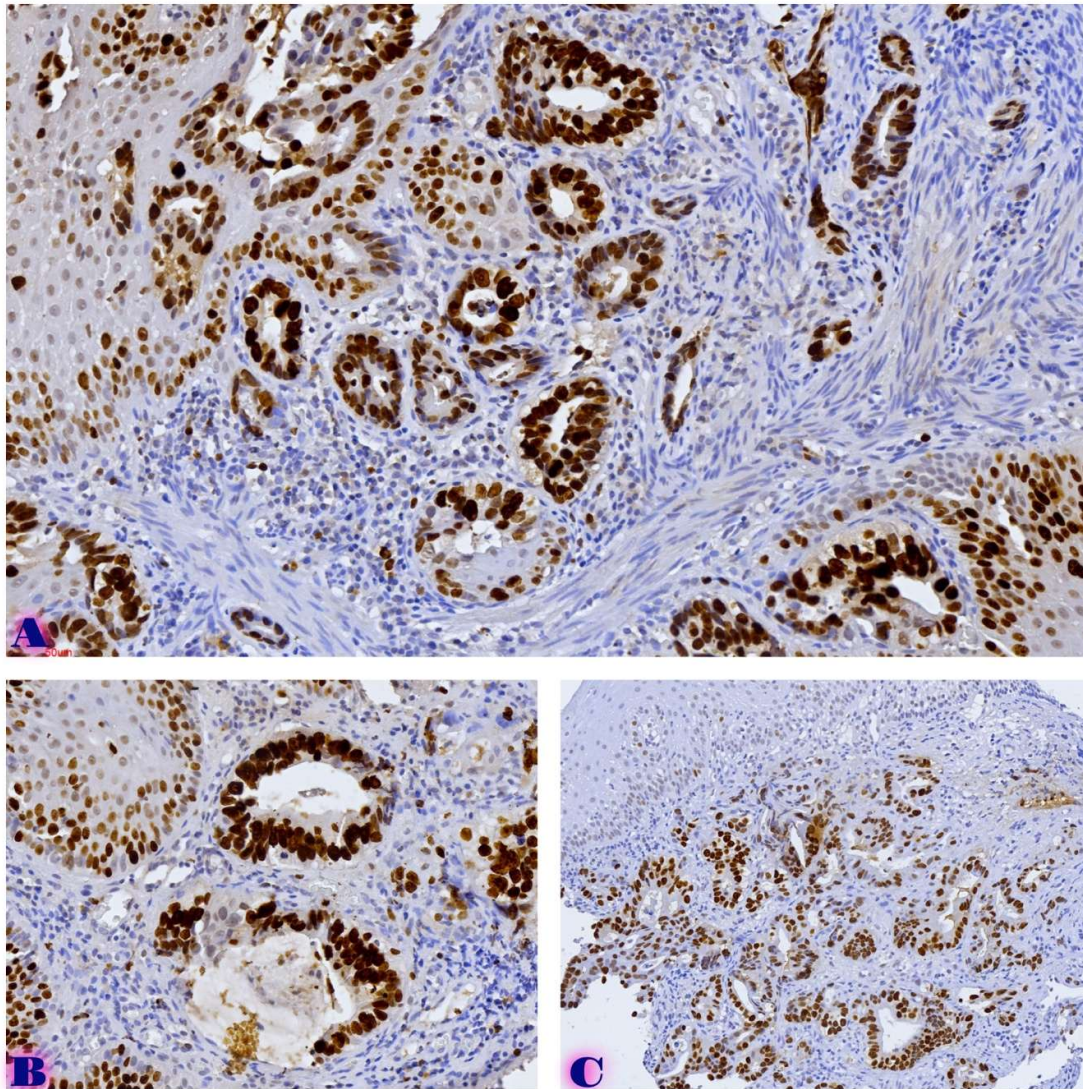
ცხოვრების წესის ფაქტორებს შორის, მოწევის გავრცელება ყველაზე მაღალი იყო მაღალი ხარისხის დისპლაზიისა და ადენოკარცინომის ჯგუფებში, ხოლო ალკოჰოლის მოხმარება უფრო ხშირად დაფიქსირდა მოწინავე დისპლაზიისა და კარცინომის მქონე პაციენტებში. პროტონული ტუმბოს ინჰიბიტორის (PPI) გამოყენება უფრო ხშირად დაფიქსირდა ბარეტის საყლაპავისა და დისპლაზიის ჯგუფებში, რაც მიუთითებს შესაძლო კავშირზე დაავადების პროგრესირებასთან. ანთების სიმძიმე თანდათან იზრდებოდა ჰისტოლოგიური ტრანსფორმაციის დროს, მძიმე ანთებით, რომელიც უპირატესად აღინიშნება ადენოკარცინომის შემთხვევებში.

იმუნოჰისტოქიმიური მარკერის ექსპრესია

SOX2-ის ექსპრესიამ აჩვენა მნიშვნელოვანი შემცირება დაავადების პროგრესირებასთან ერთად ($p < 0.001$). ძლიერი ბირთვული SOX2 ექსპრესია დაფიქსირდა საყლაპავის ნორმალურ ბრტყელ ეპითელიუმში ($58.3 \pm 4.8\%$), ხოლო ბარეტის საყლაპავმა აჩვენა ზომიერი ხარისხის ექსპრესია ($60.0 \pm 7.3\%$). დაბალი ხარისხის დისპლაზიამ აჩვენა შესამჩნევი შემცირება ($40.0 \pm 4.2\%$), ხოლო მაღალი ხარისხის დისპლაზიამ აჩვენა შემდგომი შემცირება ($7.7 \pm 2.1\%$).

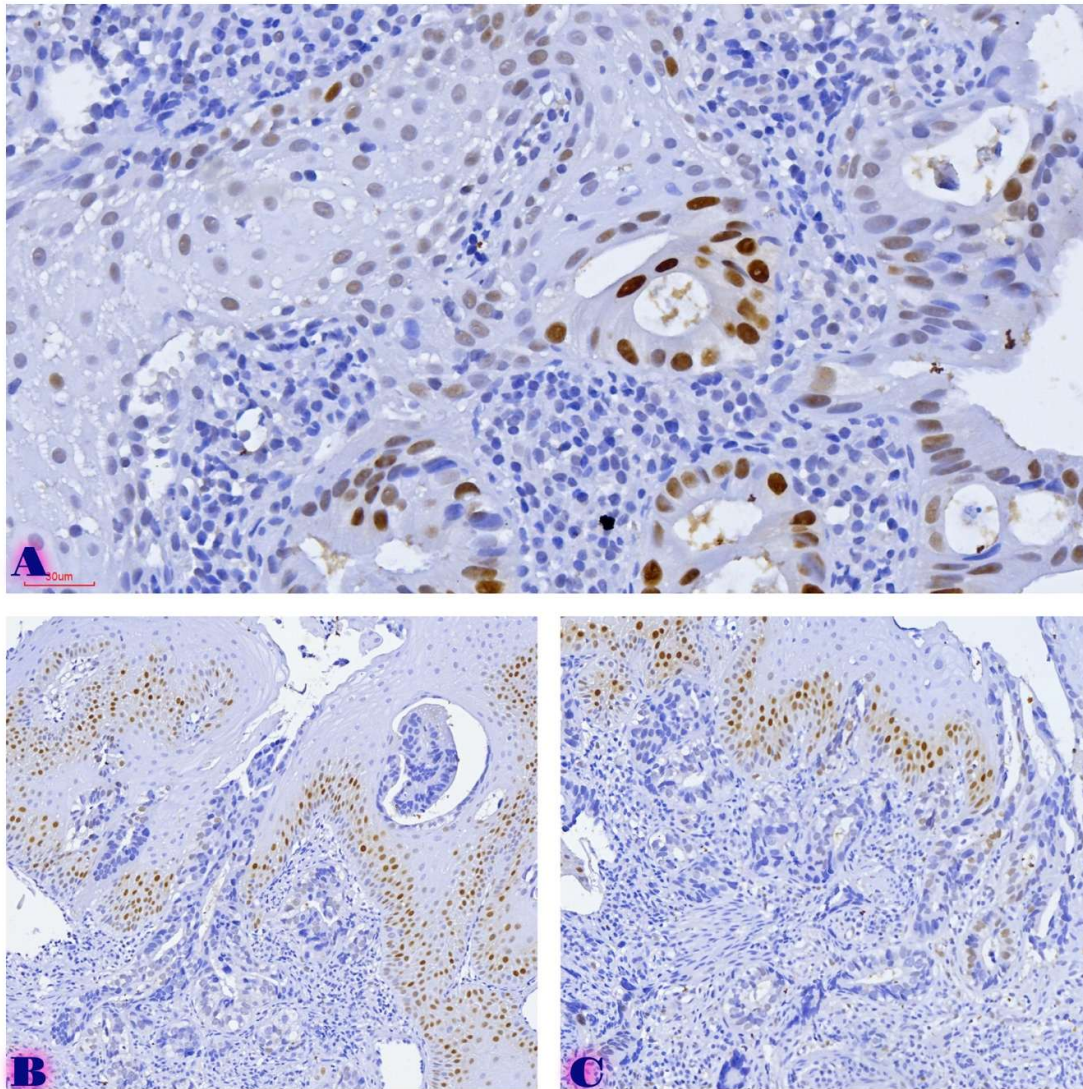
საყლაპავის ადენოკარცინომის არცერთ შესწავლილ შემთხვევაში არ დაფიქსირდა SOX2-ის ექსპრესია.

Ki67-ის ექსპრესია, მნიშვნელოვნად გაიზარდა დაავადების სიმძიმის მიხედვით ($p < 0.001$). საყლაპავის ნორმალურ ეპითელიუმში და ბარეტის საყლაპავში გამოავლინა დაბალი Ki67-ის ექსპრესია ($3.7 \pm 0.5\%$), ხოლო დაბალი ხარისხის დისპლაზიამ აჩვენა ზრდა ($30.0 \pm 4.2\%$). მაღალი ხარისხის დისპლაზიისა და ადენოკარცინომის დროს Ki67-ის დონე იყო საგრძნობლად მომატებული ($38.3 \pm 4.8\%$ და $33.3 \pm 2.4\%$, შესაბამისად), რაც მიუთითებს გაძლიერებულ პროლიფერაციულ აქტივობაზე ნეოპლაზიური პროგრესირების დროს.

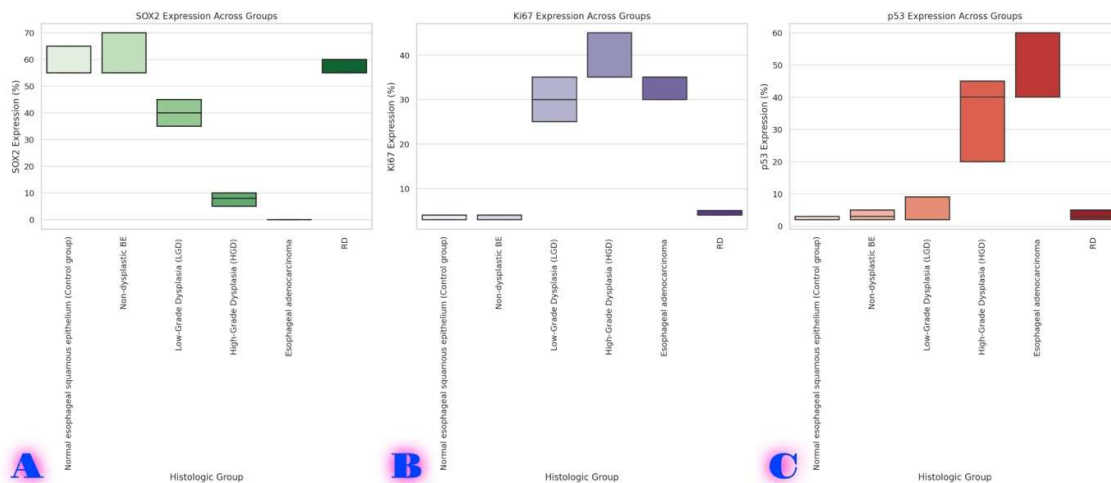


სურათი 8: A. Ki67 -ის ექსპრესია ბარეტის საყლაპავის ფონზე განვითარებულ ადენოკარცინომის შემთხვევაში IHC, 400X; B. ბარეტის საყლაპავი მაღალი ხარისხის დისპლაზიით P53-ის ექსპრესია IHC, 400X C. P53-ის ექსპრესია პარეტის საყლაპავის ფონზე განვითარებული ადენოკარცინომის შემთხვევა IHC, 200X;

p53-ის ექსპრესიის ნიმუშები მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ჰისტოლოგიურ ჯგუფებს შორის ($p < 0.001$). ბარეტის ნორმალურ და არადისპლაზიურ საყლაპავში, სუსტი p53-ის შეღებვა დაფიქსირდა უჯრედების 10%-ზე ნაკლებში ($2,3 \pm 0,5\%$ და $3,3 \pm 1,2\%$, შესაბამისად), რომელიც შეესაბამება ბუნებრივი ტიპის ექსპრესიას. დაბალი ხარისხის დისპლაზიამ აჩვენა ოდნავ გაზრდილი, მაგრამ ცვლადი p53 პოზიტიურობა ($4.3 \pm 3.4\%$), ხოლო მაღალი ხარისხის დისპლაზიამ აჩვენა p53-ის ძლიერი ბირთვული ექსპრესია უჯრედების $35.0 \pm 11.2\%$ -ში, რაც მიუთითებს ადრეულ TP53 მუტაციურ მოვლენებზე. საყლაპავის ადენოკარცინომის შემთხვევებმა აჩვენა p53-ის ყველაზე მაღალი ექსპრესია ($53.3 \pm 9.7\%$), რაც შეესაბამება ხშირ TP53 მუტაციებს ინვაზიურ ავთვისებიან სიმსივნეში.



სურათი 9. A. Ki67-ის ექსპრესია ბარეტის საყლაპავის დაბალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევებში IHC, 400X; B. SOX2-ის ექსპრესია ბარეტის საყლაპავის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევაში, IHC, 200X, C. SOX2-ის ექსპრესია საყლაპავის ადენოკარცინომის შემთხვევაში, IHC 200X



დიაგრამა 16: A. SOX2-ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში; B. Ki67-ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში; C. P53-ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

ეს დასკვნები ხაზს უსვამს ბარეტის საყლაპავის პროგრესირებასთან დაკავშირებულ განსხვავებულ მოლეკულურ ცვლილებებს და ვარაუდობს, რომ SOX2-ის დაქვეითება, Ki67-ის გადაჭარბებული ექსპრესია და p53 დაგროვება ნეოპლაზიური ტრანსფორმაციის ძირითადი ინდიკატორია.

განსჯა

ჩვენი კვლევის ფარგლებში გამოვლენილია SOX2, Ki67 და p53-ის ექსპრესია ბარეტის საყლაპავის (BE) პროგრესირებაში არადისპლაზიური მდგომარეობებიდან საყლაპავის ადენოკარცინომამდე. შედეგები აჩვენებს, რომ SOX2-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად მცირდება დაავადების პროგრესირებასთან ერთად, ხოლო Ki67 და p53-ის ექსპრესიის დონეები იზრდება დისპლაზიის სიმძიმის კორელაციაში. ეს დასკვნები ემთხვევა არსებულ კვლევებს, რომლის ფარგლებშიც შესწავლილია BE კანცეროგენეზის მოლეკულური ცვლილებები[16].

SOX2-ის ექსპრესიის დაკარგვა BE-ში და მისი თითქმის არარსებობა საყლაპავის ადენოკარცინომაში შეესაბამება წინა კვლევას Watanabe et al. (2018) რომელიც ასევე ავლენს, რომ SOX2 გადამწყვეტია საყლაპავში ბრტყელი ეპითელიუმის იდენტობის შესანარჩუნებლად და მისი დაქვეითება ხელს უწყობს ნაწლავის მეტაპლაზიაზე გადასვლას. ანალოგიურად, Qiao et al. (2020) აღმოაჩინა, რომ SOX2-ის ექსპრესიის შემცირება დაკავშირებულია CDX2 დონის მატებასთან, ნაწლავის დიფერენციაციის საკვანძო მარკერთან BE-ში[17], [18]. ჩვენი დასკვნები დამატებით ადასტურებს, რომ SOX2-ის დათრგუნვა ადრეული მოვლენაა BE-ში და შეიძლება ხელი შეუწყოს ბრტყელი დიფერენციაციის დაკარგვას, რაც დისპლაზიური ცვლილებების საშუალებას იძლევა.

Ki67-ის ექსპრესიამ, აჩვენა BE-ში მნიშვნელოვანი ზრდა დისპლაზიურიდან და ადენოკარცინომამდე, რაც მხარს უჭერს მის როლს ნეოპლაზიურ ტრანსფორმაციაში. ეს შედეგები ემთხვევა Weston et al. კვლევებს. (2017), რომელმაც აჩვენა, რომ Ki67-ის ექსპრესია კორელაციაშია დისპლაზიის სიმძიმესთან და მნიშვნელოვნად რეგულირდება მაღალი

ხარისხის დისპლაზიისა და ადენოკარცინომის დროს. გარდა ამისა, Liu et al. (2019) ვარაუდობენ, რომ Ki67, p53 იმუნოჰისტოქიმიურ ანალიზთან შერწყმისას, ემსახურება BE პროგრესირების ეფექტურ პროგნოზს[19]. ჩვენი კვლევა ამყარებს ამ დაკვირვებებს Ki67 დონის მატებასა და დისპლაზიის სიმძიმეს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი კორელაციის დემონსტრირებით.

p53 ცვლილებები კარგად არის დადასტურებული BE-დან ადენოკარცინომაზე ტრანსფორმაციაში. ჩვენს კვლევაში P53-ის ძლიერი ბირთვული ექსპრესია მაღალი ხარისხის დისპლაზიისა და ადენოკარცინომის დროს მიუთითებს კავშირზე TP53 მუტაციებთან, რომლებიც ხშირად შეინიშნება BE პროგრესირებაში. Stachle et al. (2018) დაადგინეს TP53 მუტაციები, როგორც ერთ-ერთი ყველაზე ადრეული გენეტიკური ცვლილება BE-თან ასოცირებულ კარცინოგენეზში, რომელიც ხშირად ხდება მორფოლოგიური დისპლაზიის გამოვლენამდე[10], [11], [20], [21]. ჩვენი დასკვნები ადასტურებს ამ შედეგებს და ხაზს უსვამს p53-ის მნიშვნელობას, როგორც პოტენციურ ბიომარკერს რისკის სტრატეგიკაციისთვის BE პაციენტებში.

ჩვენი კვლევის მთავარი სიძლიერე მდგომარეობს იმაში, რომ კვლევისათვის კარგად განსაზღვრულია ჰისტოლოგიური ჯგუფები და იმუნოჰისტოქიმიური მარკერები, რომლებიც ასახავს ძირითად მოლეკულურ ცვლილებებს BE პროგრესირებაში. თუმცა, კვლევის შეზღუდულობა განპირობებულია იმით რომ, კვლევა რეტროსპექტიულია და შემოიფარგლება ერთცენტრიანი კოჰორტით. ასევე მიუხედავად იმისა, რომ IHC საიმედო ტექნიკაა, მოლეკულური ვალიდაცია გენეტიკური თანმიმდევრობის ან ტრანსკრიპტომიური ანალიზის გამოყენებით კიდევ უფრო გააძლიერებს დასკვნებს. მომავალმა კვლევებმა, რომელიც მოიცავს BE-სთან დაკავშირებული ცვლილებების გენომიურ და ეპიგენეტიკურ პროფილირებას, შეიძლება უზრუნველყოს დაავადების პროგრესირების მექანიზმების უფრო სიღრმისეული ხედვა.

დასკვნა

ჩვენი კვლევის შედეგები იძლევა სტატისტიკურად სარწმუნო მტკიცებულებებს, რომ ბარეტის საყლაპავის პროგრესირება საყლაპავის ადენოკარცინომამდე დაკავშირებულია SOX2, Ki67 და p53-ის ექსპრესიის მკაფიო მოლეკულურ ცვლილებებთან. SOX2-ის მნიშვნელოვანი დაქვეითება დისპლაზიურ და სიმსივნურ ქსოვილებში მიუთითებს იმაზე, რომ მისი დაკარგვა მთავარ როლს თამაშობს ბრტყელუჯრედოვანიდან ნაწლავურ ეპითელიუმზე გადასვლაში. Ki67-ის გაზრდილი ექსპრესია ხაზს უსვამს გაძლიერებულ პროლიფერაციულ აქტივობას დისპლაზიისა და კარცინომის თანმიმდევრობების დროს, ხოლო p53-ის ექსპრესია მაღალი ხარისხის დაზიანებებსა და ადენოკარცინომაში მხარს უჭერს მის, როგორც გენომიური არასტაბილურობის მარკერის როლს. ეს დასკვნები ხაზს უსვამს ამ ბიომარკერების პოტენციალს, როგორც მაღალი რისკის მქონე BE პაციენტების იდენტიფიცირებისთვის. მომავალი კვლევები, რომლებიც აერთიანებს მოლეკულურ დაზიანებების გამოვლენას გადამწყვეტი იქნება რისკის სტრატეგიკაციის დახვეწისთვის და BE-ს ავთვისებიანი

ტრანსფორმაციის თავიდან ასაცილებლად მიზანმიმართული თერაპიული საშუალებების შემუშავებისთვის.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] P. Meshveliani, G. Didava, G. Tomadze, S. Kepuladze, and G. Burkadze, “Evaluation of proliferative activity of pre-tumor and tumor processes of Barrett’s esophagus using AgNor technology,” *ქართველი მეცნიერები*, vol. 5, no. 2, pp. 49–62, Apr. 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.02.07.
- [2] G. A. Prasad, A. Bansal, P. Sharma, and K. K. Wang, “Predictors of Progression in Barrett’s Esophagus: Current Knowledge and Future Directions,” *Am J Gastroenterol*, vol. 105, no. 7, p. 1490, Jul. 2010, doi: 10.1038/AJG.2010.2.
- [3] N. Vakil *et al.*, “The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: A global evidence-based consensus,” *American Journal of Gastroenterology*, vol. 101, no. 8, Aug. 2006, doi: 10.1111/J.1572-0241.2006.00630.X.
- [4] B. F. Overholt *et al.*, “Photodynamic therapy with porfimer sodium for ablation of high-grade dysplasia in Barrett’s esophagus: International, partially blinded, randomized phase III trial,” *Gastrointest Endosc*, vol. 62, no. 4, pp. 488–498, Oct. 2005, doi: 10.1016/J.GIE.2005.06.047.
- [5] L. M. Dong *et al.*, “Dietary supplement use and risk of neoplastic progression in esophageal adenocarcinoma: A prospective study,” *Nutr Cancer*, vol. 60, no. 1, pp. 39–48, Jan. 2008, doi: 10.1080/01635580701586762.
- [6] C. L. Ogden, S. Z. Yanovski, M. D. Carroll, and K. M. Flegal, “The Epidemiology of Obesity,” *Gastroenterology*, vol. 132, no. 6, pp. 2087–2102, 2007, doi: 10.1053/J.GASTRO.2007.03.052.
- [7] Z. R. Edelstein, D. C. Farrow, M. P. Bronner, S. N. Rosen, and T. L. Vaughan, “Central Adiposity and Risk of Barrett’s Esophagus,” *Gastroenterology*, vol. 133, no. 2, pp. 403–411, 2007, doi: 10.1053/J.GASTRO.2007.05.026.
- [8] L. C. Hillman, L. Chiragakis, B. Shadbolt, G. L. Kaye, and A. C. Clarke, “Proton-pump inhibitor therapy and the development of dysplasia in patients with Barrett’s oesophagus,” *Medical Journal of Australia*, vol. 180, no. 8, pp. 387–391, Apr. 2004, doi: 10.5694/J.1326-5377.2004.TB05991.X.
- [9] J. Jankowski and H. Barr, “Improving surveillance for Barrett’s oesophagus: AsPECT and BOSS trials provide an evidence base [11],” *Br Med J*, vol. 332, no. 7556, p. 1512, Jun. 2006, doi: 10.1136/BMJ.332.7556.1512.
- [10] T. Kveliashvili, G. Didava, S. Kepuladze, and G. Burkadze, “Problematic issues of the mucous membrane inflammatory changes of the gallbladder and the features of hormonal expression in the

- development of dysplasia-carcinoma consequence,” ქართველი მეცნიერები, vol. 4, no. 5, pp. 108–119, Oct. 2022, doi: 10.52340/gs.2022.04.05.13.
- [11] T. Kveliashvili, დიდავაგიორგი, თევზაძენინო, კეპულაძემოთა, and ბურკაძეგიორგი, “Peculiarities of the proliferative activity of the gallbladder mucosa in precancerous and cancerous pathologies detected by AgNOR technology,” ქართველი მეცნიერები, vol. 5, no. 4, pp. 342–352, Dec. 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.04.31.
- [12] E. Y. Chang *et al.*, “The effect of antireflux surgery on esophageal carcinogenesis in patients with barrett esophagus: A systematic review,” *Ann Surg*, vol. 246, no. 1, pp. 11–21, Jul. 2007, doi: 10.1097/01.SLA.0000261459.10565.E9.
- [13] K. E. Corey, S. M. Schmitz, and N. J. Shaheen, “Does a Surgical Antireflux Procedure Decrease the Incidence of Esophageal Adenocarcinoma in Barrett’s Esophagus? A Meta-Analysis,” *American Journal of Gastroenterology*, vol. 98, no. 11, pp. 2390–2394, 2003, doi: 10.1111/J.1572-0241.2003.08702.X.
- [14] L. Lundell *et al.*, “Comparing laparoscopic antireflux surgery with esomeprazole in the management of patients with chronic gastro-oesophageal reflux disease: A 3-year interim analysis of the LOTUS trial,” *Gut*, vol. 57, no. 9, pp. 1207–1213, Sep. 2008, doi: 10.1136/GUT.2008.148833.
- [15] P. Parrilla *et al.*, “Long-Term Results of a Randomized Prospective Study Comparing Medical and Surgical Treatment of Barrett’s Esophagus,” *Ann Surg*, vol. 237, no. 3, pp. 291–298, 2003, doi: 10.1097/01.SLA.0000055269.77838.8E.
- [16] A. P. Weston *et al.*, “Risk stratification of Barrett’s esophagus: Updated prospective multivariate analysis,” *American Journal of Gastroenterology*, vol. 99, no. 9, pp. 1657–1666, Sep. 2004, doi: 10.1111/J.1572-0241.2004.30426.X.
- [17] P. C. Galipeau *et al.*, “NSAIDs modulate CDKN2A, TP53, and DNA content risk for progression to esophageal adenocarcinoma,” *PLoS Med*, vol. 4, no. 2, pp. 0342–0353, Feb. 2007, doi: 10.1371/JOURNAL.PMED.0040067.
- [18] R. Kariv *et al.*, “The Seattle Protocol Does Not More Reliably Predict the Detection of Cancer at the Time of Esophagectomy Than a Less Intensive Surveillance Protocol,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 7, no. 6, pp. 653–658, Jun. 2009, doi: 10.1016/J.CGH.2008.11.024.
- [19] S. Wani, S. Mathur, and P. Sharma, “How to Manage a Barrett’s Esophagus Patient With Low-Grade Dysplasia,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 7, no. 1, pp. 27–32, 2009, doi: 10.1016/J.CGH.2008.08.014.
- [20] A. Rastogi, S. Puli, H. B. El-Serag, A. Bansal, S. Wani, and P. Sharma, “Incidence of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett’s esophagus and high-grade dysplasia: a meta-analysis,” *Gastrointest Endosc*, vol. 67, no. 3, pp. 394–398, Mar. 2008, doi: 10.1016/J.GIE.2007.07.019.

[21] M. Skacel, R. E. Petras, T. L. Gramlich, J. E. Sigel, J. E. Richter, and J. R. Goldblum, "The Diagnosis of Low-Grade Dysplasia in Barrett's Esophagus and Its Implications for Disease Progression," *American Journal of Gastroenterology*, vol. 95, no. 12, pp. 3383–3387, Dec. 2000, doi: 10.1111/J.1572-0241.2000.03348.X.

Immunohistochemical Analysis of SOX2, Ki67, and p53 Expression in the Progression of Barrett's Esophagus to Esophageal Adenocarcinoma

P. Meshveliani; G. Didava; G. Tomadze; Sh. Kepuladze; G. Burkadze

Tbilisi State Medical University

Abstract

Background: Barrett's esophagus (BE) is a premalignant condition that progresses to esophageal adenocarcinoma (EAC) through a sequence of dysplastic changes. The molecular alterations involved in this transition remain incompletely understood. This study evaluates the expression of SOX2, Ki67, and p53 across different stages of BE progression using immunohistochemistry.

Methods: A retrospective analysis was performed on 90 formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue samples from patients categorized into six groups: normal esophageal squamous epithelium (n=15), reflux disease (n=15), non-dysplastic BE (n=15), low-grade dysplasia (LGD, n=15), high-grade dysplasia (HGD, n=15), and esophageal adenocarcinoma (EAC, n=15). Immunohistochemical staining for SOX2, Ki67, and p53 was conducted. Staining intensity and percentage of positive cells were assessed semi-quantitatively. Statistical analysis was performed using ANOVA and Spearman's correlation tests.

Results: SOX2 expression was significantly reduced with disease progression ($p < 0.001$), with strong expression in normal esophageal epithelium ($58.3 \pm 4.8\%$) and near-total loss in EAC. Ki67 expression increased significantly in dysplastic and neoplastic tissues ($p < 0.001$), with the highest levels observed in HGD ($38.3 \pm 4.8\%$). p53 nuclear accumulation was minimal in normal and non-dysplastic BE, but increased significantly in HGD ($35.0 \pm 11.2\%$) and peaked in EAC ($53.3 \pm 9.7\%$) ($p < 0.001$), suggesting TP53 mutation involvement in malignant transformation.

Conclusion: The findings suggest that SOX2 downregulation is an early event in BE, facilitating intestinal metaplasia, while Ki67 and p53 overexpression are associated with dysplasia progression. These biomarkers may serve as useful indicators for identifying high-risk BE patients requiring closer surveillance and early intervention strategies.

Keywords: Barrett's esophagus, SOX2, Ki67, p53, esophageal adenocarcinoma, dysplasia, immunohistochemistry, tumor progression

ავტორთა შესახებ ინფორმაცია

პაატა მეშველიანი - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი;

Paata Meshveliani – PhD Student at Tbilisi State Medical University;

გიორგი დიდავა - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ასოცირებული პროფესორი;

George Didava – Associate Professor at Tbilisi State Medical University;

Email: giorgi.didava10@gmail.com

გია თომაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი; ზოგადი ქირურგი;

Gia Tomadze – Professor at Tbilisi State Medical University; MD; FACs; General Surgeon;

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 ზურკაძე - 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>