

CDK4-ისა და ციკლინის D1-ის ექსპრესიის თავისებურებები საშვილოსნოს სტრომულ სიმსივნეებსა და სარკომებში: დიაგნოსტიკური და პროგნოზული მნიშვნელობა

ლალა ბარბაქაძე; ნიკოლოზ კინტრაია; შოთა კეპულაძე; გიორგი ბურკაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

საშვილოსნოს სტრომული სიმსივნეები მოიცავს ნეოპლაზიების ჰისტოლოგიურად და კლინიკურად ჰეტეროგენულ ჯგუფს, დაწყებული კეთილთვისებიანი ენდომეტრიუმის სტრომული კვანძებიდან (ESN) დამთავრებული დაბალი ხარისხის და მაღალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომულ სარკომამდე (LG-ESS და HG-ESS). ჯერ კიდევ შეზღუდული რჩება დიაგნოსტიკური და პროგნოზული შეფასების სანდო მარკერები. ეს კვლევა მიზნად ისახავდა CDK4-ისა და ციკლინის D1-ის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის შეფასებას საშვილოსნოს სტრომულ სიმსივნეებში და მათი კავშირის გამოვლენას სიმსივნის ავთვისებიანობის ხარისხთან, ჰორმონური რეცეპტორების სტატუსთან, პროლიფერაციის ინდექსთან და დაავადებისგან თავისუფალ გადარჩენის მაჩვენებელთან (DFS). სულ ორმოცდახუთი საშვილოსნოს სტრომული სიმსივნე იყო შესწავლილი რეტროსპექტულად, მათ შორის 15 შემთხვევა ESN, 15 - LG-ESS და 15 - HG-ESS. CDK4, Cyclin D1, CD10, ესტროგენის რეცეპტორის (ER), პროგესტერონის რეცეპტორის (PR) და Ki67-ის იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა განხორციელდა Leica-ს ანტისხეულების გამოყენებით. CDK4 და Cyclin D1 ექსპრესია რაოდენობრივად შეფასდა H-ქულის მეთოდის გამოყენებით. სტატისტიკურად გაანალიზებული იყო კორელაციები მარკერის ექსპრესიას, კლინიკოპათოლოგიურ პარამეტრებსა და დაავადებისგან თავისუფალ გადარჩენის მაჩვენებელს (DFS) შორის. CDK4 და Cyclin D1 H- ქულების პროგრესული ზრდა დაფიქსირდა ESN-დან LG-ESS და HG-ESS-მდე ($p < 0.001$). ჰორმონური რეცეპტორების ექსპრესია და დიფუზური CD10 შეღებვა მნიშვნელოვნად შემცირდა სიმსივნის ხარისხის მატებასთან ერთად ($p < 0.001$). CDK4 და Cyclin D1 H- ქულები აჩვენებდნენ ძლიერ ინვერსიულ კორელაციას ER/PR ექსპრესიასთან და დადებით კორელაციასთან Ki67 ინდექსთან. მაღალი CDK4 (H-ქულა > 150) და ციკლინი D1 (H-ქულა > 200) ექსპრესიის შემთხვევები მნიშვნელოვნად იყო დაკავშირებული DFS-ის შემცირებასთან. CDK4 და Cyclin D1 გადაჭარბებული ექსპრესია ასოცირდება სიმსივნის უფრო მაღალ ხარისხთან, ჰორმონური რეცეპტორების ექსპრესიის დაკარგვასთან, გაზრდილ პროლიფერაციულ

აქტივობასთან და დაავადებისგან თავისუფალი გადარჩენის დაბალ მაჩვენებელთან. ეს მარკერები შეიძლება იყოს სიმსივნის აგრესიულობის პოტენციური ინდიკატორი და შეიძლება ინტეგრირდეს კლინიკურ პრაქტიკაში.

საკვანძო სიტყვები: საშვილოსნოს სტრომული სიმსივნეები, ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომა, CDK4, ციკლინი D1, ჰორმონალური რეცეპტორები, Ki67, CD10.

შესავალი

ენდომეტრიუმის სტრომული სიმსივნეები წარმოადგენს საშვილოსნოს იშვიათ მეზენქიმურ ნეოპლაზიებს, რომლებიც მოიცავს ჰისტოლოგიურ სპექტრს როგორც კეთილთვისებიან ასევე ავთვისებიან დაზიანებებს[1]. ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის (WHO) 2020 კლასიფიკაციის მიხედვით, ამ სიმსივნეების ჯგუფი მოიცავს ენდომეტრიუმის სტრომულ კვანძს (ESN), დაბალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომულ სარკომას (LG-ESS), მაღალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომულ სარკომას (HG-ESS) და არადიფერენცირებულ საშვილოსნოს სარკომას[2]. ESN არის კეთილთვისებიანი, კარგად შემოსაზღვრული დაზიანება ინფილტრაციული პოტენციალის გარეშე, ხოლო LG-ESS და HG-ESS არის ინფილტრაციული და ავთვისებიანი, რეციდივის და მეტასტაზური პოტენციალის სხვადასხვა ხარისხით[3].

მიუხედავად იმისა, რომ ამ სიმსივნეების ჰისტოპათოლოგიური კლასიფიკაცია კარგად არის განსაზღვრული, რჩება გამოწვევები ზუსტი დიაგნოზისა და პროგნოზის თვალსაზრისით, განსაკუთრებით ESN-ის LG-ESS-ისგან განსხვავებაში და აგრესიული ქცევის იდენტიფიცირებაში[4]. განსხვავება ამ ერთეულებს შორის კრიტიკულია, რადგან LG-ESS ხშირად პასუხობს ჰორმონურ თერაპიას, ხოლო HG-ESS ასოცირდება ცუდ შედეგებთან და მკურნალობის შეზღუდულ საშუალებებთან. ბოლოდროინდელმა მიღწევებმა გააუმჯობესა ჩვენი გაგება ამ სიმსივნეებში ჩართული გენეტიკური და მოლეკულური ცვლილებების შესახებ, მათ შორის გენების შერწყმის, როგორიცაა JAZF1-SUZ12 LG-ESS-ში და YWHAE-NUTM2 HG-ESS[5]. თუმცა, ეს მოლეკულური ტესტები არ არის უნივერსალურად ხელმისაწვდომი. არსებობს ძლიერი საჭიროება პრაქტიკული, ეკონომიური ბიომარკერებისთვის, რომლებსაც შეუძლიათ დიაგნოსტიკის მხარდაჭერა, რისკის სტრატეფიკაცია და პროგნოზული ინფორმაციის მიწოდება რუტინულ პათოლოგიურ პრაქტიკაში[6].

უჯრედული ციკლის მექანიზმების დისრეგულაცია არის მრავალი კიბოს დამახასიათებელი ნიშანი, მათ შორის სარკომის[7], [8]. კერძოდ, ციკლინის D-CDK4/6-Rb გზა თამაშობს მთავარ როლს G1-S ფაზის გადასვლაში[9]. ციკლინი D1 და CDK4-ის გადაჭარბებული ექსპრესია ხელს უწყობს უჯრედების პროლიფერაციას და ჩართულია რამდენიმე სხვადასხვა ორგანოთა სისტემის სიმსივნის პათოგენეზში, როგორიცაა მათ შორის ძუძუს კარცინომა, ლიპოსარკომა და გლიობლასტომა[10]. ინჰიბიტორები, რომლებიც თერაპიულად უმიზნებს ამ გზას (მაგ., პალბოციკლიბი) უკვე გამოიყენება კლინიკურ ონკოლოგიაში[11].

სიმსივნის სხვა ტიპებში მათი დამკვიდრებული როლის მიუხედავად, CDK4-ისა და ციკლინ D1-ის ექსპრესიის ტიპები ენდომეტრიუმის სტრომულ სიმსივნეებში ჯერ კიდევ არასათანადოდ შესწავლილად რჩება[12]. გარკვეულმა კვლევებმა გამოავლინა მათი დიაგნოსტიკური ან პროგნოზული სარგებლობა საშვილოსნოს სარკომებში და დღემდე არცერთს არ აქვს საფუძვლიანად შეფასებული მათი კავშირი ჰორმონური რეცეპტორების სტატუსთან, პროლიფერაციულ აქტივობასთან ან კლინიკურ შედეგთან სტრომული სიმსივნის სპექტრის კონტექსტში[13].

გარდა ამისა, ურთიერთქმედება უჯრედული ციკლის მარკერებსა და სტრომული დიფერენციაციის მარკერებს შორის, როგორცაა CD10 და ჰორმონალური რეცეპტორები (ER/PR), კარგად არ არის დახასიათებული[14]. CD10, ენდომეტრიუმის სტრომული დიფერენციაციის მარკერი, ხშირად გამოიყენება დიაგნოსტიკაში, მაგრამ მისი დაკარგვა მაღალი ხარისხის სარკომებში გაურკვეველი რჩება[15]. ანალოგიურად, ER და PR ექსპრესიის პროგნოზული შესაბამისობა ამ სიმსივნეებში, და მათი კავშირი პროლიფერაციასთან და უჯრედული ციკლის დისრეგულაციასთან, არ არის სრულყოფილად შესწავლილი[16].

ამ ხარვეზების გათვალისწინებით, ეს კვლევა მიზნად ისახავს CDK4-ისა და ციკლინის D1-ის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის შეფასებას ენდომეტრიუმის სტრომული სიმსივნეების სპექტრში, მათ შორის კეთილთვისებიან კვანძებსა და როგორც დაბალი, ასევე მაღალი ხარისხის სარკომებში[11], [16]. ჩვენ შემდგომ ვაფასებთ მათ კორელაციას სიმსივნის ხარისხთან, CD10 ექსპრესიასთან, ER/PR სტატუსთან, Ki67 ინდექსთან და დაავადებისგან თავისუფალ გადარჩენასთან (DFS). კლასიკური მორფოლოგიის იმუნოფენოტიპურ პროფილირებასთან ინტეგრირებით, ჩვენ ვცდილობთ გამოვავლინოთ პრაქტიკული მარკერები, რომლებმაც შეიძლება ხელი შეუწყონ დიაგნოსტიკური სიზუსტისა და პროგნოზული შეფასების გაუმჯობესებას და პოტენციურად თერაპიულ სტრატეგიებს აგრესიულ ენდომეტრიუმის სტრომულ სარკომებში.

მასალები და მეთოდები

კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტულ კვლევას, რომელიც ჩატარდა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიის სასწავლო, სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის ბაზაზე. არქივიდან ამოღებული იქნა საშვილოსნოს სტრომული სიმსივნეების 45 შემთხვევა, რომლებიც დიაგნოზირებულია 2015-2025 წლებში. საკვლევი კოჰორტა მოიცავდა ენდომეტრიუმის სტრომული კვანძის (ESN) 15 შემთხვევას, დაბალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომის 15 შემთხვევას (LG-ESS) და მაღალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომის (HG-ESS) 15 შემთხვევას.

კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმები იყო: (i) ჰისტოლოგიურად დადასტურებული დიაგნოზი ქალთა რეპროდუქციულ ორგანოთა სიმსივნეების WHO კლასიფიკაციის საფუძველზე, მე-5 გამოცემა (2020); (ii) ფორმალინში ფიქსირებული, პარაფინით ჩაყალიბებული (FFPE) ქსოვილის მასალის ხელმისაწვდომობა; (iii) სრული კლინიკური, პათოლოგიური და შემდგომი დაკვირვების მონაცემების ხელმისაწვდომობა. გამორიცხვის კრიტერიუმი იყო

შემთხვევები ქსოვილის არაადეკვატური ნიმუშებით ან არასრული კლინიკური ინფორმაციით.

კლინიკური მონაცემები, მათ შორის პაციენტის ასაკი, მენოპაუზის სტატუსი, სიმსივნის ზომა, პათოლოგიური სტადია, სიმსივნური ნეკროზის არსებობა, ლიმფოვასკულური ინვაზია და შემდგომი კლინიკური დაკვირვების ინფორმაცია, შეგროვდა სამედიცინო ჩანაწერებიდან და პაციენტთა ისტორიების ანგარიშებიდან. გამოყენებული იყო ჰისტოპათოლოგიური გამოკვლევისას FIGO 2014 კრიტერიუმები. დაავადებისგან თავისუფალი პერიოდი (DFS) გამოითვლებოდა, როგორც დროის ინტერვალი (თვეები) საწყისი ოპერაციიდან პირველ დოკუმენტურ რეციდივებამდე/მეტასტაზებამდე ან ბოლო შემდგომ დაკვირვებამდე.

იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვა ჩატარდა 4 μ m სისქის FFPE ქსოვილის მონაკვეთებზე Bond-Max ავტომატური IHC სისტემის (Leica Biosystems) გამოყენებით. გამოყენებული იქნა შემდეგი პირველადი ანტისხეულები (ყველა Leica Biosystems-ისგან): ესტროგენის რეცეპტორი (ER) EP1 1:100 ბირთვული ექსპრესია; პროგესტერონის რეცეპტორი (PR) PgR636 1:100 ბირთვული ექსპრესია; CD10 56C6 1:100 მემბრანული და ციტოპლაზმური ექსპრესია; CDK4 DCS-31 1:50 ბირთვული ექსპრესია; Cyclin D1 SP4 1:50 ბირთვული ექსპრესია; Ki67 MIB-1 1:100 ბირთვული ექსპრესია. ყველა მარკერისთვის გამოყენებული იყო შესაბამისი დადებითი და უარყოფითი კონტროლი.

ER და PR: ექსპრესია შეფასდა სიმსივნური უჯრედების პოზიტიური ბირთვების პროცენტული მაჩვენებლით. შემთხვევები დაყოფილი იყო როგორც დადებითი ($\geq 1\%$) ან უარყოფითი ($< 1\%$) აღწერილობითი სტატისტიკური ანალიზისათვის და პროცენტული მაჩვენებელი გამოყენებული იყო სხვა სტატისტიკური ანალიზისთვის.

CD10: ექსპრესია დაფიქსირდა როგორც დიფუზური, ფოკალური ან უარყოფითი, ციტოპლაზმური/მემბრანული შეღებვის ნიმუშის საფუძველზე.

CDK4 და ციკლინი D1: ბირთვული გამოხატულება ნახევრად რაოდენობრივად შეფასდა H-ქულის მეთოდის გამოყენებით, გამოითვლება როგორც: H-ქულა = $(1 \times \% \text{ სუსტად შეღებილი ბირთვების}) + (2 \times \% \text{ ზომიერად შეღებილი ბირთვების}) + (3 \times \% \text{ ძლიერად შეღებილი ბირთვების})$. მთლიანი H-ქულა მერყეობდა 0-დან 300-მდე.

Ki67: პროლიფერაციის ინდექსი გამოთვლილი იყო სიმსივნური უჯრედების დადებითი ბირთვების პროცენტულად.

ყველა იმუნოჰისტოქიმიური შეფასება ჩატარდა დამოუკიდებლად ორი გამოცდილი პათოლოგიის მიერ.

სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით (ვერსია 3). უწყვეტი ცვლადები გამოიხატა როგორც საშუალო $\pm$ სტანდარტული გადახრა (SD) და შეადარეს კრუსკალ-ვალისის ტესტის გამოყენებით სამი ჯგუფის შედარებისთვის და Mann-Whitney U ტესტის გამოყენებით წყვილი შედარებისთვის. კატეგორიული ცვლადები გაანალიზდა Chi-square ტესტის ან ფიშერის ზუსტი ტესტის გამოყენებით. კორელაციები იმუნოჰისტოქიმიურ მარკერებსა და კლინიკოპათოლოგიურ პარამეტრებს შორის შეფასებული იყო Spearman-ის კორელაციის კოეფიციენტის გამოყენებით. კაპლან-მაიერის

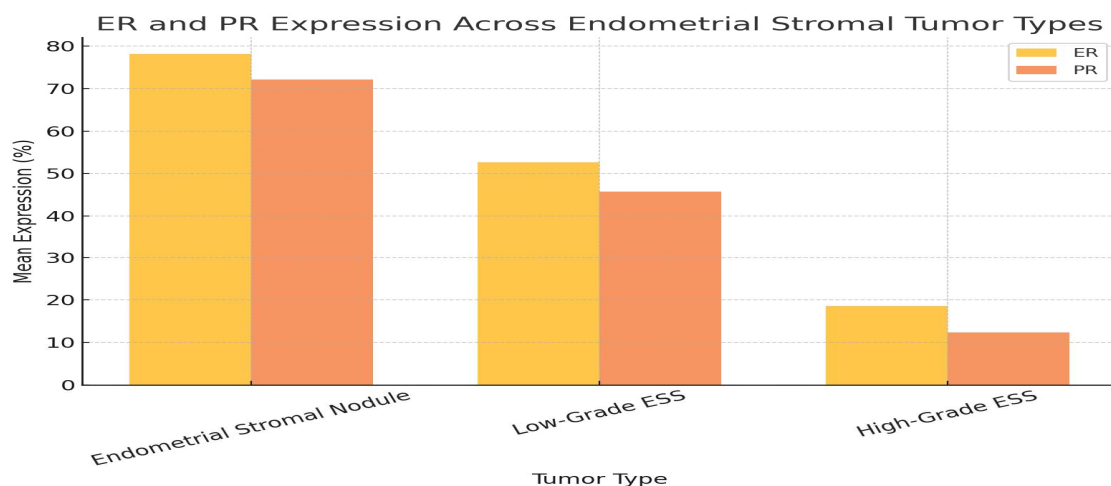
გადარჩენის ანალიზი და ლოგ-რანგის ტესტი გამოყენებული იყო დაავადებისგან თავისუფალი გადარჩენის (DFS) შესაფასებლად. p -მნიშვნელობა <0.05 ჩათვლილი იყო სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი.

შედეგები

ამ კვლევაში ჩართული იყო საშვილოსნოს სტრომული სიმსივნის ორმოცდახუთი შემთხვევა, რომელიც შედგებოდა ენდომეტრიუმის სტრომული კვანძის (ESN) თხუთმეტი შემთხვევისგან, დაბალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომის (LG-ESS) და მაღალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომის (HG-ESS) ასევე თითოეულ ჯგუფში თხუთმეტი შემთხვევისგან. პაციენტების საშუალო ასაკი იყო $59,1 \pm 11,3$ წელი, 40-დან 75 წლამდე ინტერვალში. მათ შორის ოცი პაციენტი (44.4%) იყო პრემენოპაუზური, ხოლო ოცდახუთი (55.6%) პოსტმენოპაუზური დიაგნოზის დასმის დროს.

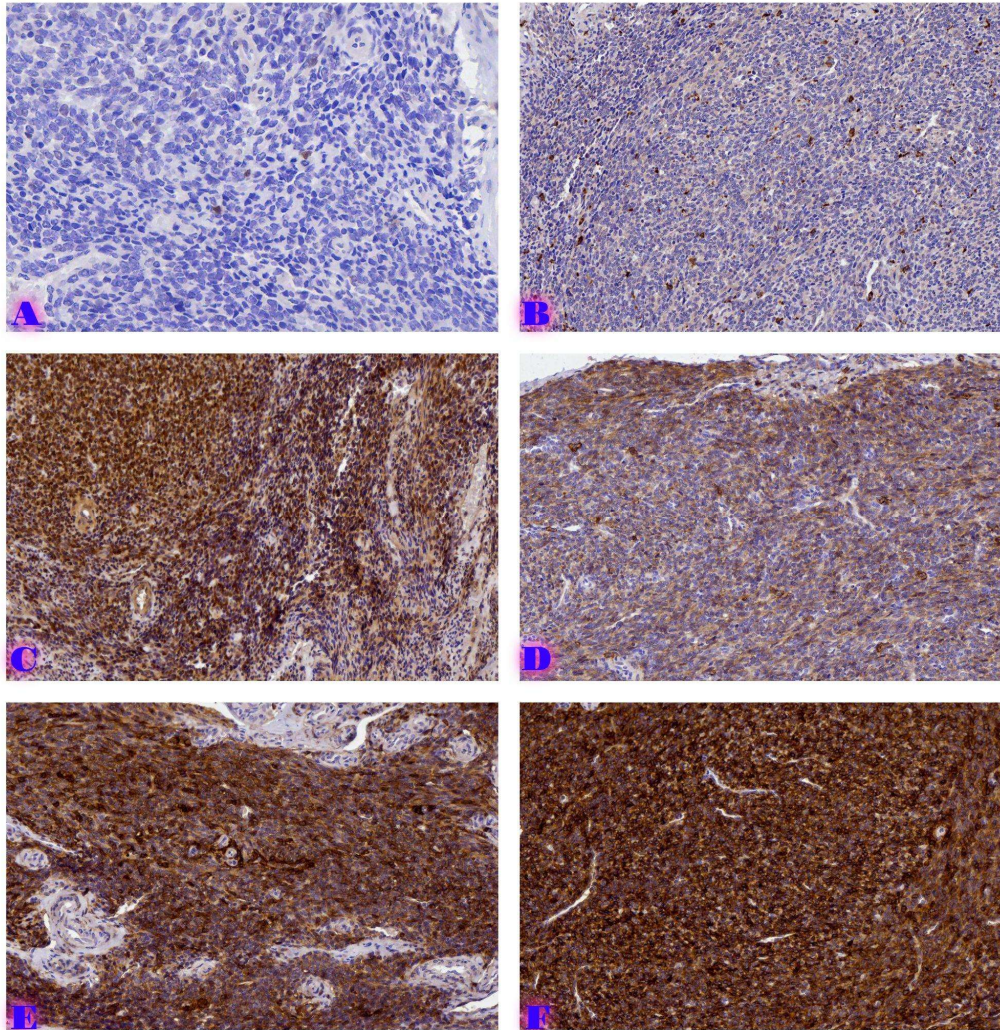
სიმსივნის საშუალო ზომა ყველა შემთხვევაში იყო 4.9 სმ, სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება დაფიქსირდა სიმსივნის ტიპებს შორის. ESN-ის შემთხვევებმა აჩვენა სიმსივნის ყველაზე მცირე საშუალო ზომა ($3,1 \pm 0,5$ სმ), რასაც მოჰყვა LG-ESS ($4,2 \pm 0,8$ სმ), ხოლო HG-ESS შემთხვევებმა აჩვენა სიმსივნის უდიდესი საშუალო ზომა ($7,3 \pm 1,1$ სმ) ($p < 0,001$). სიმსივნური ნეკროზი გამოვლინდა LG-ESS შემთხვევების 26.7%-ში და HG-ESS შემთხვევების 53.3%-ში, ხოლო ESN-ის არც ერთ შემთხვევას არ აჩვენა ნეკროზი. ანალოგიურად, ლიმფოვასკულარული ინვაზია დაფიქსირდა LG-ESS-ის 40%-ში და HG-ESS-ის 66.7%-ში, მაგრამ არ იყო ყველა ESN-ის შემთხვევაში. სიმსივნის ნეკროზიც და ლიმფოვასკულარული ინვაზიის სიხშირე აჩვენებდა მნიშვნელოვან კავშირს სიმსივნის ხარისხთან ($p < 0,001$).

იმუნოჰისტოქიმიურმა ანალიზმა გამოავლინა ჰორმონური რეცეპტორების ექსპრესიის პროგრესირებადი დაქვეითება ESN-დან HG-ESS-მდე. ესტროგენის რეცეპტორის (ER) საშუალო ექსპრესია ESN-ში იყო $78.2 \pm 8.5\%$, მნიშვნელოვნად შემცირდა $52.7 \pm 9.4\%$ -მდე LG-ESS-ში და შემდგომ $18.6 \pm 7.8\%$ -მდე HG-ESS-ში ($p < 0,001$). პროგესტერონის რეცეპტორის (PR) ექსპრესიამ აჩვენა მსგავსი ტენდენცია, საშუალო მნიშვნელობებით $72.1 \pm 9.0\%$ ESN-ში, $45.8 \pm 11.3\%$ LG-ESS-ში და $12.4 \pm 5.2\%$ HG-ESS-ში ($p < 0,001$).



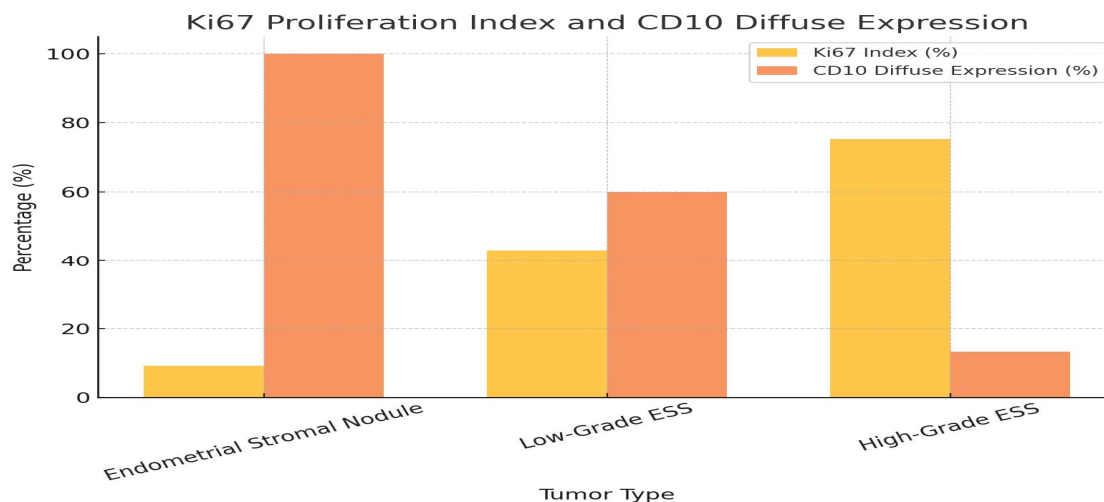
დიაგრამა 1: ER/PR-ის ექსპრესიის განაწილება სხვადასხვა საკვლევ ჯგუფებში;

CD10 ექსპრესია ასევე მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა სიმსივნის ჯგუფებს შორის. ყველა ESN შემთხვევა აჩვენებდა დიფუზურ CD10 პოზიტიურობას. ამის საპირისპიროდ, LG-ESS შემთხვევებმა აჩვენა დიფუზური CD10 პოზიტიურობა შემთხვევების 60%-ში და ფოკალური პოზიტიურობა შემთხვევების 40%-ში. HG-ESS ჯგუფში დიფუზური ექსპრესია იყო შემთხვევების მხოლოდ 13,3%-ში, ფოკალური ექსპრესია 53,3%-ში და უარყოფითი ექსპრესია 33,3%-ში. განსხვავებები CD10 ექსპრესიის ნიმუშებში სიმსივნურ ჯგუფებს შორის იყო სტატისტიკურად სარწმუნო ($p < 0.001$).



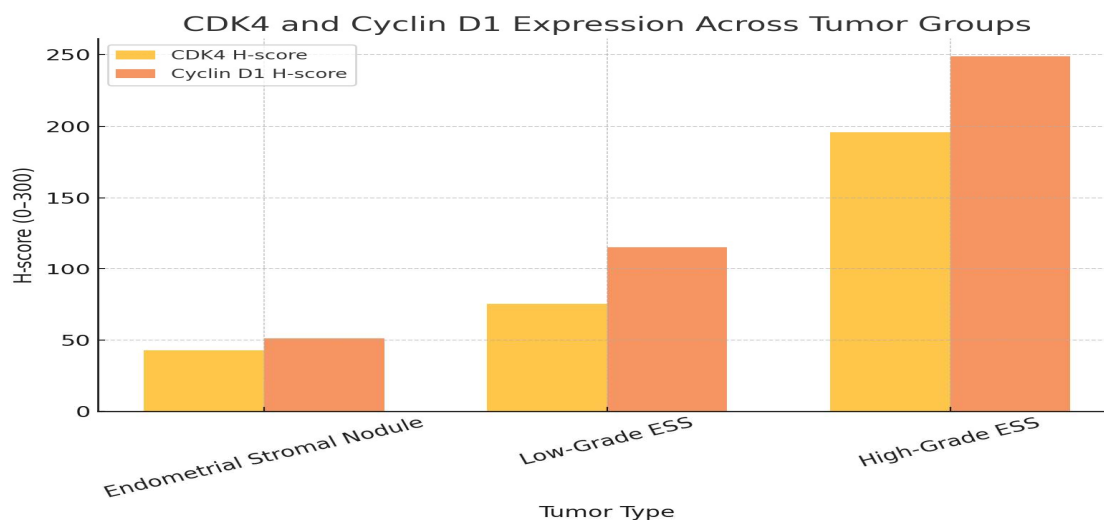
სურათი 1: A. ენდომეტრიუმის სტრომული კვანძი Ki67-ის ექსპრესია IHC; 200X; B. ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომა - Low Grade Ki67-ის ექსპრესია IHC; 200X; C. ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომა - High Grade CyclinD1-ის ექსპრესია, IHC; 200X; D. ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომა - Low Grade CyclinD1-ის ექსპრესია, IHC; 200X; E. ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომა - Low Grade CDK4-ის ექსპრესია IHC; 200X; F. ენდომეტრიუმის სტრომული სარკომა - High Grade CDK4-ის ექსპრესია, IHC; 200X;

Ki67 პროლიფერაციის ინდექსმა აჩვენა მსგავსი ტენდენცია, საშუალო ინდექსით $9.2 \pm 2.3\%$ ESN-ში, გაიზარდა $43.1 \pm 10.6\%$ LG-ESS-ში და მიაღწია $75.3 \pm 12.8\%$ HG-ESS-ში. განსხვავებები იყო სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ($p < 0.001$).



დიაგრამა 2: Ki67/CD10 -ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

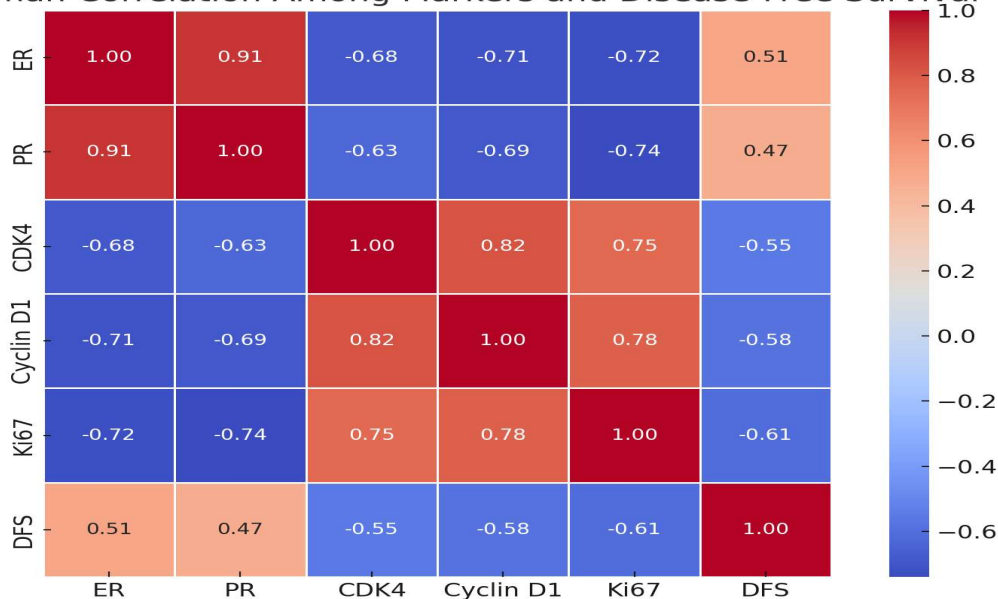
CDK4 და Cyclin D1 ექსპრესიის ეტაპობრივი ზრდა გამოვლინდა სიმსივნის ხარისხის გაზრდით. საშუალო H-ქულა CDK4 ექსპრესიისთვის იყო 42.6 ± 12.3 ESN შემთხვევებში, ამალეებული 75.3 ± 18.2 -მდე LG-ESS-ში და პიკს აღწევს 195.8 ± 25.1 HG-ESS-ში. ანალოგიურად, ციკლინის D1 გამოხატვის საშუალო H- ქულა გაიზარდა 51.2 ± 15.7 -დან ESN-ში 115.7 ± 24.6 -მდე LG-ESS-ში და 248.9 ± 21.3 HG-ESS-ში. H- ქულების განსხვავება ჯგუფებს შორის იყო სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ორივე მარკერისთვის ($p < 0.001$).



დიაგრამა 3: CDK4/CyclinD1-ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

კორელაციის ანალიზმა გამოავლინა მნიშვნელოვანი ინვერსიული კორელაცია ER და PR ექსპრესიას და CDK4 და Cyclin D1 H-ქულებს შორის ($r = -0.68$ და -0.71 , შესაბამისად; $p < 0.001$). გარდა ამისა, დაფიქსირდა ძლიერი დადებითი კორელაცია Ki67 პროლიფერაციის ინდექსსა და CDK4 ($r = 0.75$) და Cyclin D1 ($r = 0.78$) ექსპრესიას შორის ($p < 0.001$). დიფუზური CD10 ექსპრესიის დაკარგვა ასევე მნიშვნელოვნად იყო დაკავშირებული CDK4 და Cyclin D1 უფრო მაღალ ექსპრესიასთან ($p < 0.001$).

Spearman Correlation Among Markers and Disease-Free Survival



დიაგრამა 4: მარკერებსა და DFS-ის შორის კორელაციური კავშირები;

კლინიკური მეთვალყურეობის საშუალო პერიოდის შეადგენდა 32 თვე, დაავადების რეციდივი ან მეტასტაზები დაფიქსირდა თერთმეტ პაციენტში (24.4%). აქედან ერთი შემთხვევა დაფიქსირდა LG-ESS ჯგუფში და ათი შემთხვევა დაფიქსირდა HG-ESS ჯგუფში, ხოლო ESN შემთხვევებს შორის არ დაფიქსირებულა რეციდივები. კაპლან-მაიერის გადარჩენის ანალიზმა აჩვენა მნიშვნელოვნად შემცირებული დაავადებისგან თავისუფალი გადარჩენის მაჩვენებელი (DFS) პაციენტებში მაღალი CDK4 (H-ქულა >150) და ციკლინ D1 (H-ქულა >200) ექსპრესიით ($p < 0.001$). DFS ასევე მნიშვნელოვნად უფრო ხანმოკლე იყო პაციენტებში, რომლებსაც აქვთ CD10 უარყოფითი ან ფოკალური ექსპრესია ($p = 0.002$), იმ პაციენტებში, რომლებსაც არ ჰქონდათ მაღალი ER/PR ექსპრესია ($p = 0.004$) და ხასიათდებოდა მაღალი Ki67 ინდექსით (>50%) ($p < 0.001$).

განსჯა

ჩვენი კვლევის ფარგლებში მულტიფაქტორულად შეფასდა CDK4-ისა და ციკლინ D1-ის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესია საშვილოსნოს სტრომული სიმსივნეებისა და სარკომების კოჰორტაში, აჩვენა მათი მნიშვნელოვანი კავშირი სიმსივნის ხარისხთან, ჰორმონური რეცეპტორის სტატუსთან, პროლიფერაციის ინდექსთან და კლინიკურ შედეგთან. ჩვენი კვლევის შედეგად არსებული მონაცემები გვაწვდის ახალ შეხედულებებს ფენოტიპურ ცვლილებებზე, რომლებიც დაკავშირებულია სიმსივნის პროგრესირებასთან ამ ჰისტოლოგიური სპექტრის ფარგლებში.

CDK4 და Cyclin D1 ექსპრესიის პროგრესული ზრდა ენდომეტრიუმის სტრომული კვანძებიდან დაბალი ხარისხის და მაღალი ხარისხის ენდომეტრიუმის სტრომულ სარკომამის ჯგუფებამდე ხაზს უსვამს უჯრედული ციკლის დისრეგულაციის ცენტრალურ როლს სიმსივნის აგრესიულობაში. ეს შედეგები შეესაბამება არსებულ მტკიცებულებებს სხვა რბილ

ქსოვილებში და გინეკოლოგიურ სარკომებში, სადაც ციკლინის D-CDK4 გზის გააქტიურება ჩართული იყო ავთვისებიანი ტრანსფორმაციასა და პროგრესირებაში.

ჩვენს კვლევაში, CDK4 და Cyclin D1 ჭარბი ექსპრესია საპირისპირო კორელაციაში იყო ER და PR ექსპრესიასთან, რაც მხარს უჭერს ფენოტიპური დედიფერენციაციის კონცეფციას და ჰორმონური ექსპრესიის დაკარგვას მაღალი ხარისხის სარკომებში. ეს ემთხვევა წინა დაკვირვებებს, რომ LG-ESS ინარჩუნებს ჰორმონური რეცეპტორების პოზიტიურობას და სტრომულ დიფერენციაციას, ხოლო HG-ESS ავლენს ჰორმონური რეცეპტორების დაკარგვას და გაზრდილი პროლიფერაციული უნარს.

CD10 ექსპრესიის შეფასებამ კიდევ უფრო გააძლიერა ეს ფენოტიპური ცვლილება. დიფუზური CD10 ექსპრესია, რომელიც დამახასიათებელი იყო ნორმალური ენდომეტრიუმის სტრომისთვის და ESN-სთვის, თანდათანობით იკარგებოდა LG-ESS და HG-ESS-ში, მნიშვნელოვანი კავშირით CD10-ის შემცირებულ ექსპრესიასა და CDK4 და ციკლინის D1 ამაღლებულ დონეებს შორის. ეს დასკვნები ვარაუდობს, რომ CD10 შეიძლება იყოს არა მხოლოდ დიაგნოსტიკური მარკერი, არამედ როგორც სიმსივნის დიფერენციაციისა და აგრესიულობის არაპირდაპირი მაჩვენებელი.

Ki67 პროლიფერაციის ინდექსი მიჰყვებოდა მსგავს ტენდენციას, მნიშვნელოვნად გაიზარდა სიმსივნის ხარისხით და დადებითად კორელაციაში იყო CDK4 და Cyclin D1 ექსპრესიასთან. ეს მხარს უჭერს უჯრედული ციკლის აქტივაციის ბიოლოგიურ მნიშვნელობას HG-ESS-ის აგრესიულ ქცევაში.

მნიშვნელოვანია, რომ ჩვენმა გადარჩენის ანალიზმა აჩვენა, რომ მაღალი CDK4 და Cyclin D1 ექსპრესია, CD10 ექსპრესიის დაკარგვა, ER/PR ნეგატიურობა და გაზრდილი Ki67 ინდექსი მნიშვნელოვნად იყო დაკავშირებული დაავადებისგან თავისუფალ გადარჩენასთან. ეს შედეგები ვარაუდობს, რომ CDK4 და Cyclin D1 ექსპრესია შეიძლება იყოს პრაქტიკული პროგნოზული ბიომარკერები საშვილოსნოს სტრომულ სიმსივნეებში, რაც ავსებს არსებულ ჰისტოპათოლოგიურ კრიტერიუმებს.

კლინიკურად დამტკიცებული CDK4/6 ინჰიბიტორების ხელმისაწვდომობის გათვალისწინებით, როგორიცაა პალბოციკლიბი და რიბოციკლიბი, CDK4-ისა და ციკლინ D1-ის ჭარბი ექსპრესია HG-ESS-ში შეიძლება იყოს პოტენციური თერაპიული სამიზნე აგრესიული დაავადების მქონე პაციენტებისთვის. შემდგომი მოლეკულური კვლევები და კლინიკური კვლევები აუცილებელია ამ თერაპიული შესაძლებლობის შესასწავლად.

ამ კვლევის შეზღუდვები მოიცავს მის რეტროსპექტულ დიზაინს. გარდა ამისა, გენის მოლეკულური რეარანჟირების დადასტურება (მაგ., YWHAЕ, JAZF1) არ განხორციელებულა და შეიძლება შემდგომმა კვლევებმა შეავსოს და სრულყოს იმუნოჰისტოქიმიური დასკვნები.

დასკვნა

ჩვენი კვლევა ხაზს უსვამს CDK4-ისა და ციკლინ D1-ის ჭარბი ექსპრესიის დიაგნოსტიკურ და პროგნოზულ მნიშვნელობას საშვილოსნოს სტრომულ სიმსივნეებსა და სარკომებში. მათი ექსპრესიის პროგრესული ზრდა კეთილთვისებიანი სიმსივნეებიდან მაღალი ხარისხის სიმსივნემდე, ჰორმონური რეცეპტორების ექსპრესიის დაკარგვასთან და CD10-ის ექსპრესიის დაკარგვასთან ერთად, ასახავს ფენოტიპურ დედიფერენციაციას და გაზრდილ პროლიფერაციულ აქტივობას. ეს მარკერები შეიძლება დამხმარე აღმოჩნდეს დიაგნოსტიკურად მაღალი რისკის ჯგუფების სტრატეფიკაციის, რეციდივის რისკის შეფასებისა და სამომავლო პერსონალიზირებული თერაპიული საშუალებების შემუშავებაში.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] F. K. F. Kommoss et al., “Endometrial Stromal Sarcomas With BCOR Internal Tandem Duplication and Variant BCOR/BCORL1 Rearrangements Resemble High-grade Endometrial Stromal Sarcomas With Recurrent CDK4 Pathway Alterations and MDM2 Amplifications,” *Am J Surg Pathol*, vol. 46, no. 8, pp. 1142–1152, Aug. 2022, doi: 10.1097/PAS.0000000000001909.
- [2] A. Hrzenjak, “JAZF1/SUZ12 gene fusion in endometrial stromal sarcomas,” *Orphanet J Rare Dis*, vol. 11, no. 1, Feb. 2016, doi: 10.1186/s13023-016-0400-8.
- [3] C. M. J. Conklin and T. A. Longacre, “Endometrial stromal tumors: The new who classification,” *Adv Anat Pathol*, vol. 21, no. 6, pp. 383–393, 2014, doi: 10.1097/PAP.000000000000046.
- [4] A. J. Kruse et al., “Aggressive behavior and poor prognosis of endometrial stromal sarcomas with YWHAE-FAM22 rearrangement indicate the clinical importance to recognize this subset,” *International Journal of Gynecological Cancer*, vol. 24, no. 9, pp. 1616–1622, Nov. 2014, doi: 10.1097/IGC.0000000000000278.
- [5] E. Oliva, “Practical issues in uterine pathology from banal to bewildering: The remarkable spectrum of smooth muscle neoplasia,” *Modern Pathology*, vol. 29, no. S1, pp. S104–S120, Jan. 2016, doi: 10.1038/modpathol.2015.139.
- [6] C. H. Lee et al., “The clinicopathologic features of YWHAE-FAM22 endometrial stromal sarcomas: A histologically high-grade and clinically aggressive tumor,” *American Journal of Surgical Pathology*, vol. 36, no. 5, pp. 641–653, May 2012, doi: 10.1097/PAS.0b013e31824a7b1a.
- [7] 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.

- [8] K. Shengelaia, I. Kokhreidze, G. Burkadze, S. Kepuladze, and N. Tevzadze, "Challenges of Androgen Receptor Expression in Epithelial Tumors of the Breast and Ovary," *Georgian Scientists*, vol. 5, no. 3, pp. 75–84, Aug. 2023, doi: 10.52340/2023.05.03.09.
- [9] მიმოხილვადგენი, გოგიტიშვილი, კეპულაძე, თევზაძე, and ბურკაძე, "The Role of the Local Neural microenvironment in the Progression of cervical intraepithelial Neoplasia," *Georgian Scientists*, vol. 5, no. 3, pp. 182–188, Sep. 2023, doi: 10.52340/2023.05.03.19.
- [10] G. Arveladze, R. Beriashvili, S. Kepuladze, and G. Burkadze, "Evaluation of proliferative activity of different subtypes of basal cell carcinomas by AgNOR technology," *Georgian Scientists*, vol. 5, no. 4, pp. 206–218, Dec. 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.04.19.
- [11] X. Guo, E. Forgó, and M. van de Rijn, "Molecular subtyping of leiomyosarcoma with 3' end RNA sequencing," *Genom Data*, vol. 5, pp. 366–367, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.gdata.2015.06.029.
- [12] T. Kveliashvili, G. Didava, N. Tevzadze, S. Kepuladze, and G. Burkadze, "Peculiarities of the proliferative activity of the gallbladder mucosa in precancerous and cancerous pathologies detected by AgNOR technology," *Georgian Scientists*, vol. 5, no. 4, pp. 342–352, Dec. 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.04.31.
- [13] 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," *Georgian Scientists*, vol. 6, no. 1, pp. 45–57, Jan. 2024, doi: 10.52340/gs.2024.06.01.08.
- [14] N. Sarauli, R. Gvamichava, N. kantaria, S. Kepuladze, and G. Burkadze, "Phenotypic characteristics of peritoneal tumor implants in ovarian epithelial tumors," *Georgian Scientists*, vol. 6, no. 2, pp. 111–120, Apr. 2024, doi: 10.52340/gs.2024.06.02.13.
- [15] V. I. Shah and W. G. McCluggage, "Cyclin D1 does not distinguish YWHAE-NUTM2 high-grade endometrial stromal sarcoma from undifferentiated endometrial carcinoma," *American Journal of Surgical Pathology*, vol. 39, no. 5, pp. 722–724, Apr. 2015, doi: 10.1097/PAS.0000000000000427.
- [16] C. H. Lee et al., "Cyclin D1 as a diagnostic immunomarker for endometrial stromal sarcoma with YWHAE-FAM22 rearrangement," *Am J Surg Pathol*, vol. 36, no. 10, pp. 1562–1570, Oct. 2012, doi: 10.1097/PAS.0B013E31825FA931.

Expression Patterns of CDK4 and Cyclin D1 in Uterine Stromal Tumors and Sarcomas: Diagnostic and Prognostic Implications

L. Barbakadze; N. Kintraia; Sh. Kepuladze; G. Burkadze

Tbilisi State Medical University

Abstract

Uterine stromal tumors encompass a histologically and clinically heterogeneous group of neoplasms ranging from benign endometrial stromal nodules (ESN) to low-grade and high-grade endometrial stromal sarcomas (LG-ESS and HG-ESS). Reliable markers for diagnostic stratification and prognostic assessment remain limited.

This study aimed to evaluate the immunohistochemical expression of CDK4 and Cyclin D1 in uterine stromal tumors and assess their association with tumor grade, hormonal receptor status, proliferation index, and disease-free survival. A total of forty-five uterine stromal tumors were retrospectively analyzed, including 15 cases each of ESN, LG-ESS, and HG-ESS. Immunohistochemical staining for CDK4, Cyclin D1, CD10, estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and Ki67 was performed using Leica antibodies. CDK4 and Cyclin D1 expressions were quantified using the H-score method. Correlations between marker expression, clinicopathological parameters, and disease-free survival (DFS) were statistically analyzed. A progressive increase in CDK4 and Cyclin D1 H-scores was observed from ESN to LG-ESS and HG-ESS ($p < 0.001$). Hormonal receptor expression and diffuse CD10 staining decreased significantly with increasing tumor grade ($p < 0.001$). CDK4 and Cyclin D1 H-scores showed a strong inverse correlation with ER/PR expression and a positive correlation with Ki67 index. Disease recurrence occurred exclusively in sarcoma cases, predominantly in HG-ESS. High CDK4 (H-score >150) and Cyclin D1 (H-score >200) expression, negative or focal CD10 expression, ER/PR negativity, and Ki67 index $>50\%$ were significantly associated with reduced DFS. CDK4 and Cyclin D1 overexpression are associated with higher tumor grade, loss of hormonal receptor expression, increased proliferative activity, and poor disease-free survival in uterine stromal tumors. These markers may serve as potential indicators of tumor aggressiveness and could be integrated into diagnostic and prognostic assessment protocols.

Keywords: Uterine stromal tumors, endometrial stromal sarcoma, CDK4, Cyclin D1, hormonal receptors, Ki67, CD10

ავტორთა შესახებ ინფორმაცია:

ლალი ბარბაკაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის PhD სტუდენტი;
Lali Barbakadze – Phd Student at Tbilisi State Medical University,
E-Mail: l.barkadze@tsmu.edu

ნიკოლოზ კინტრაია - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი;
მეანობა-გინეკოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი;
Nikoloz Kintraia - Professor at Tbilisi State Medical University;
E-Mail: kintraia@hotmail.com

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>

შოთა კეპულაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ექიმი
პათოლოგანატომი; მედიცინის დოქტორი;
Shota Kepuladze – Phd Student at Tbilisi State Medical University, MD, Clinical Pathologist;
E-mail: shota.kepuladze@gmail.com
Phone Number: +995 598297600
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5919-5581>