

სისხლძარღვთა რემოდელირების თავისებურებები საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიისა და ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომის შემთხვევებში: ციფრულ პათოლოგიაზე დაფუძნებული მორფომეტრული და იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი

გიორგი გოგიტიძე; შოთა კეპულაძე; გიორგიბურკაძე;

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

აბსტრაქტი

ანგიოგენეზი სიმსივნის პროგრესირების მნიშვნელოვანი კომპონენტია, მაგრამ მისი როლი საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანებებში ჯერ კიდევ არ არის კარგად შესწავლილი. საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია (CIN) 1-დან CIN3-მდე წარმოადგენს ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომის (SCC) განვითარების ჰისტოლოგიურ თანმიმდევრობას, რომელიც ძირითადად გამოწვეულია თანმხლები მაღალი რისკის ადამიანის პაპილომავირუსის (HPV) ინფექციით. ეს კვლევა შეისწავლის სისხლძარღვთა რემოდელირებას CIN-ის სპექტრსა და SCC-ის შემთხვევებში მორფომეტრული და იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) ტექნოლოგიის გამოყენებით. საარქივო ნიმუშები ამოღებულია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ლაბორატორიიდან. კლინიკური მონაცემები მოიცავდა პაციენტის ასაკს, HPV სტატუსს და მენსტრუალურ სტატუსს. ჩატარდა IHC CD34-ისთვის. ციფრული პათოლოგიის ანალიზმა MoticEasyScan-ის, QuPath-ისა და ImageJ-ის გამოყენებით შეაფასა მიკროსისხლძარღვების სიმკვრივე (MVD), სისხლმილთა დიამეტრი, სისხლძარღვთა ორიენტაცია, პერივასკულარული ლოკალიზაცია, ანთება და ფიბროზი. CD34-ზე დაფუძნებული MVD თანდათან გაიზარდა ნორმალური საშვილოსნოს ყელიდან (90 სისხლმილი/მმ²) ინვაზიურ SCC-მდე (250 სისხლმილი/მმ²). სისხლმილის დიამეტრი გაიზარდა ნორმალურ ქსოვილის 4მკმ-დან 20მკმ-მდე CIN3-ში. სისხლძარღვთა ყველა მახასიათებელმა აჩვენა ძლიერი დადებითი კორელაცია CIN სიმძიმესთან (Spearman $\rho > 0.89$; $p < 0.01$). კრუსკალ-ვალის ტესტმა დაადასტურა მნიშვნელოვანი განსხვავებები ჯგუფებს შორის ($p < 0.01$ MVD-სთვის, დიამეტრი). ეს კვლევა ხაზს უსვამს სისხლძარღვთა პროგრესირებად რემოდელირებას, როგორც CIN-ის პროგრესირებისა და ინვაზიურ კარცინომაზე გადასვლის ძირითად მახასიათებელს. კომბინირებული მორფომეტრიული და IHC ანალიზი ავლენს ადრეულ ცვლილებებს საშვილოსნოს ყელის სტრომის მიკროვასკულატურაში, რაც გავლენას ახდენს ადრეულ დიაგნოსტიკაზე.

საკვანძო სიტყვები: საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია, ანგიოგენეზი, CD34, ციფრული პათოლოგია, მიკროსისხლძარღვთა სიმკვრივე, HPV, ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა, იმუნოჰისტოქიმია;

მიმოხილვა

საშვილოსნოს ყელის კიბო რჩება საზოგადოებრივი ჯანდაცვის მნიშვნელოვან გამოწვევად მთელი მსოფლიოს მასშტაბით. იგი მეოთხე ყველაზე გავრცელებული ავთვისებიანი სიმსივნეა ქალთა პოპულაციაში [1], [2]. კიბოს გლობალური სტატისტიკის მიხედვით (GLOBOCAN 2020), 600,000-ზე მეტი ახალი შემთხვევა და 340,000-ზე მეტი ლეტალური გამოსავალი გამოწვეულია საშვილოსნოს ყელის კიბოს შემთხვევებით, არაპროპორციულად მოქმედებს დაბალი და საშუალო შემოსავლის მქონე ქვეყნებზე. საშვილოსნოს ყელის კიბოს პათოგენეზი მჭიდროდ არის დაკავშირებული მაღალი რისკის მქონე ადამიანის პაპილომაღვირუსის (HPV) ტიპის მუდმივ ინფექციასთან, განსაკუთრებით HPV-16 და HPV-18, რომლებიც მონაწილეობენ ინვაზიური შემთხვევების 70%-ზე მეტის პათოგენეზში [3].

საშვილოსნოს ყელის კიბოს განვითარება, როგორც წესი, მიჰყვება კარგად დახასიათებულ ჰისტოპათოლოგიურ თანმიმდევრობას, დაწყებული საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიიდან (CIN) [4]. CIN კლასიფიცირდება სამ ხარისხად, ეპითელიუმის დაზიანების პროპორციის მიხედვით, რომელიც ავლენს დისპლაზიურ ცვლილებებს: CIN1 (მსუბუქი დისპლაზია), CIN2 (ზომიერი დისპლაზია) და CIN3 (მძიმე დისპლაზია ან კარცინომა in situ). ეს კლასიფიკაცია არა მხოლოდ განსაზღვრავს კლინიკურ მენეჯმენტს, არამედ ასახავს ბიოლოგიურ პროგრესს ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომისკენ (SCC). CIN1 დაზიანებები ხშირად სპონტანურად რეგრესირდება, მაშინ როცა CIN2 და CIN3 პროგრესირების მნიშვნელოვნად მაღალი რისკი აქვთ, განსაკუთრებით მაღალი რისკის HPV გენოტიპების არსებობისას [5].

მაღალი რისკის HPV-ის ონკოგენური პოტენციალი მდგომარეობს ვირუსული ონკოპროტეინების E6 და E7 მოქმედებაში, რომლებიც ახდენენ სიმსივნის სუპრესორული ცილების p53 და რეტინობლასტომის (Rb) ინაქტივაციას [6], [7]. ეს იწვევს უჯრედული ციკლის კონტროლის დარღვევას, აპოპტოზის დაქვეითებას, გენომიურ არასტაბილურობას და გაძლიერებულ პროლიფერაციულ სიგნალიზაციას. თუმცა, ეპითელიური დისრეგულაციის მიღმა, მზარდი ყურადღება მიექცა სტრომული მიკროგარემოს როლს, განსაკუთრებით ანგიოგენეზს, ინტრაეპითელური ნეოპლაზიიდან ინვაზიურ დაავადებაზე გადასვლაში [8].

ანგიოგენეზი, ახალი სისხლძარღვების წარმოქმნა უკვე არსებული სისხლძარღვებიდან, კიბოს დამახასიათებელი ნიშანია. ის უზრუნველყოფს სიმსივნური უჯრედების საკვები ნივთიერებებითა და ჟანგბადით მომარაგებას და ხელს უწყობს ნარჩენების მოცილებას. საშვილოსნოს ყელში, ანგიოგენეზი არა მხოლოდ ინვაზიური კარცინომის დამახასიათებელია, არამედ უფრო მეტად აღიარებულია, როგორც ადრეული მოვლენა CIN პროგრესირებაში [9]. კვლევებმა აჩვენა, რომ CIN1 დაზიანებებსაც კი შეუძლიათ აჩვენონ მიკროსისხლძარღვთა სიმკვრივის (MVD) მომატებული მაჩვენებელი, უფრო გამოხატული სისხლძარღვოვანი ცვლილებები შეინიშნება CIN2-3-ში. ეს ცვლილებები მოიცავს გაფართოებულ კაპილარებს, სისხლძარღვთა განშტოების გაზრდას და პერივასკულარულ კლასტერირებას დისპლაზიური ეპითელიუმის მახლობლად.

ენდოთელური მარკერები, როგორიცაა CD34 და CD31, ჩვეულებრივ გამოიყენება იმუნოჰისტოქიმიაში (IHC) MVD და სისხლძარღვთა მორფოლოგიის შესაფასებლად. CD34, ტრანსმემბრანული გლიკოპროტეინი, რომელიც ექსპრესირებულია ენდოთელური პროგენიტორულ უჯრედებზე, არის განსაკუთრებით მგრძნობიარე მარკერი მცირე და უმწიფარი სისხლძარღვების გამოსავლენად. CD31 (PECAM-1), თუმცა ნაკლებად მგრძნობიარეა, მაგრამ ადასტურებს ენდოთელიუმის იდენტობას და ხშირად გამოიყენება შედარებითი ანალიზისთვის. გარდა ამისა, სისხლძარღვთა ენდოთელური ზრდის ფაქტორი (VEGF) არის ცენტრალური პრო-ანგიოგენური ციტოკინი, რომლის ექსპრესია დაკავშირებულია დაზიანების ხარისხთან და MVD-სთან საშვილოსნოს ყელის ნეოპლაზიაში. VEGF რეგულირდება HPV E6/E7-ით და კიდევ უფრო ძლიერდება ჰიპოქსიით, ანთებითი შუამავლებით და მატრიქსის რემოდელირებით[10].

წინა კვლევებმა აჩვენა, რომ VEGF-ის გადაჭარბებული ექსპრესია დაკავშირებულია CIN-ის უფრო მაღალ ხარისხთან და ცუდ პროგნოზთან საშვილოსნოს ყელის კარცინომის დროს, და რომ ანტიანგიოგენურ აგენტებს, როგორიცაა ბევაციზუმაბი, შეუძლიათ კლინიკური სარგებელი მისცენ საშვილოსნოს ყელის კიბოს მკურნალობის დროს. მიუხედავად ამ შეხედულებებისა, ნაკლები კვლევა არის ფოკუსირებული სისხლძარღვთა მორფომეტრიულ და სივრცულ რეორგანიზაციაზე CIN პროგრესირების დროს, განსაკუთრებით ეპითელიურ-სტრომულ ინტერფეისზე, სადაც იწყება ნეოპლაზიური ინვაზია[11].

საშვილოსნოს ყელის ეპითელიუმს მჭიდროდ უჭერს მხარს სტრომული კომპონენტი, რომელიც შედგება ფიბრობლასტების, იმუნური უჯრედების, კოლაგენის მატრიქსისა და მიკროსისხლძარღვებისგან. ნეოპლაზიური ტრანსფორმაციის დროს ეს სტრომული არქიტექტურა განიცდის რემოდელირებას. ერთ-ერთი თვალსაჩინო მახასიათებელია მიკროსისხლძარღვების პერივასკულარული ლოკალიზაციის ზრდა დისპლაზიური ეპითელიუმის ბაზალური შრის მახლობლად, ხშირად ბაზალურის მემბრანიდან 50 მკმ-ის ფარგლებში. ითვლება, რომ ეს სიახლოვე ხელს უწყობს ეპითელიურ-ენდოთელური სიგნალის გადაცემას და, შესაძლოა, ნეოვასკულარულ პროლიფერაციას, რომეიც ასევე გამოწვეულია სტრომული VEGF და ანთებითი ციტოკინებით[12], [13].

გარდა ამისა, სტრომული სისხლძარღვების ორიენტაცია - ჩვეულებრივ ბაზალური მემბრანის პარალელურად - იცვლება მაღალი ხარისხის დაზიანებებსა და ინვაზიურ სიმსივნეებში. სისხლძარღვების პერპენდიკულარული და ქაოტური განლაგება შეიძლება ასახავდეს ბაზალური მემბრანის დესტაბილიზაციას, ფიბრობლასტების გააქტიურებას ან ეპითელიურ-მეზენქიმურ გადასვლას (EMT), თუმცა ეს მოსაზრებები ჯერ კიდევ რჩება აქტიური შესწავლის პროცესში[13].

ანგიოგენეზის ტრადიციული ჰისტოლოგიური შეფასება შემოიფარგლება დამკვირვებელთა სუბიექტურობით და ცვალებადობით. ციფრული პათოლოგიის ბოლოდროინდელმა მიღწევებმა, მათ შორის მთლიანი სლაიდების სკანირებამ და გამოსახულების ანალიზის პლატფორმებმა (მაგ., QuPath, ImageJ), საშუალება მოგვცა ამ პროცესების მეტად ობიექტურად შეფასების[14].

ციფრული ალგორითმები საშუალებას გვაძლევს ზუსტად განსაზღვროთ: მიკროსისხლძარღვების სიმკვრივე (სისხლძარღვი/მმ²); სისხლძარღვის დიამეტრი (მკმ);

სისხლძარღვთა ორიენტაცია (კუთხე ეპითელიუმთან მიმართებით); პერივასკულარული ლოკალიზაცია.

ციფრული ხელსაწყოების გამოყენებით, მორფომეტრიული გაზომვები ახლა შეიძლება დავაკავშიროთ კლინიკურ და მოლეკულურ მონაცემებთან სტატისტიკური ანალიზისათვის. ჩვენი კვლევა მიზნად ისახავს შეისწავლოს სისხლძარღვთა არქიტექტურისა და ანგიოგენური აქტივობის დეტალური თავისებურებები, ციფრული ანალიზის დახმარებით CIN სპექტრის მასშტაბით და საშვილოსნოს ყელის ინვაზიური კარცინომის შემთხვევებში. CD34-ის ექსპრესიის შეფასებით, მორფომეტრულ პარამეტრებთან ერთად, როგორცაა MVD, სისხლძარღვის დიამეტრი, ორიენტაცია და პერივასკულური კლასტერირება.

მასალა და მეთოდები

კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტულ კოჰორტულ კვლევას, რომელიც ჩატარდა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის (თსუ) პათოლოგიის სასწავლო, სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის ბაზაზე. კვლევა მოიცავდა საშვილოსნოს ყელის დაზიანებათა საარქივო ნიმუშებს, რომლებიც დამუშავებული იყო 2017-დან 2025 წლებში. ყველა პროცედურა ჩატარდა ეთიკური პრინციპებისა და ჰელსინკის დეკლარაციის შესაბამისად. კვლევა მხარდაჭერილია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკის კომისიის მიერ.

შერჩეული იყო შემთხვევები, რომელიც მოიცავდა საშვილოსნოს ყელის ნეოპლაზიური პროგრესირების ჰისტოპათოლოგიურ სპექტრს: საშვილოსნოს ყელის ნორმალური ქსოვილი, საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზია (CIN) 1, 2 და 3 ხარისხის და ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა (SCC). კლინიკური მონაცემები აღებული იქნა სამედიცინო ჩანაწერებიდან და მოიცავდა: პაციენტის ასაკი, HPV სტატუსი (დადებითი ან უარყოფითი), მენსტრუალური მდგომარეობა (პრემენოპაუზური, პოსტმენოპაუზური). ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზი ეფუძნებოდა ბიოფსიის ან კონიზაციის ნიმუშებს.

ყველა H&E შეღებილი ანათალი პირველადად განხილული იყო ორი დამოუკიდებელი პათანატომის მიერ ჰისტოლოგიური დიაგნოზის დასადასტურებლად და სტრომული ცვლილებების შესაფასებლად. შემდეგი პარამეტრები შეფასდა ნახევრად რაოდენობრივად:

ანთება : 0 = არ არის; 1 = მსუბუქი (გაფანტული ანთებითი უჯრედები); 2 = ზომიერი; 3 = მძიმე (ლიმფოციტური ფოლიკულები ან პლაზმური უჯრედების აგრეგატები);

ფიბროზი: 0 = არ არის; 1 = მსუბუქი (სტრომის მინიმალური ფიბროზი); 2 = ზომიერი (ინტერსტიციული კოლაგენიზაცია); 3 = მაღალი (მკვრივი, ფიბროზული სტრომა);

ყველა შეღებილი ანათალი დასკანირებული იყო MoticEasyScan მთლიანი სლაიდების სკანერის გამოყენებით (Motic Medical Diagnostic Systems Co., Ltd., ჩინეთი) 40 × გადიდებით. ციფრული სლაიდები გაანალიზდა QuPath (ვერსია 0.5) და ImageJ (NIH) პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით. მორფომეტრიული გაზომვები აღებული იყო სამ „ცხელ წერტილში“ თითო შემთხვევისთვის, შეირჩა რეგიონები მიკროსისხლძარღვების ყველაზე მაღალი სიმკვრივით.

სერიული ანათლები (3-4 μm) მომზადდა ფორმალინით დაფიქსირებული, პარაფინით ჩაყალიბებული (FFPE) ბლოკებისგან დეპარაფინიზაციისა და რეჰიდრატაციის შემდეგ, ანტიგენის აღდგენა განხორციელდა ციტრატის ბუფერის გამოყენებით (pH 6.0).

გამოყენებული იქნა შემდეგი ანტისხეული: CD34 (კლონი QBEnd/10, Leica Biosystems) – პან-ენდოთელური მარკერი.

იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი ჩატარდა Leica BOND-MAX ავტომატურ შეღებვაზე Bond Polymer Refine Detection Kit-ის გამოყენებით (Leica Biosystems).

რაოდენობრივი და ნახევრად რაოდენობრივი ანალიზი

1. სისხლმილების სიმკვრივე (MVD)

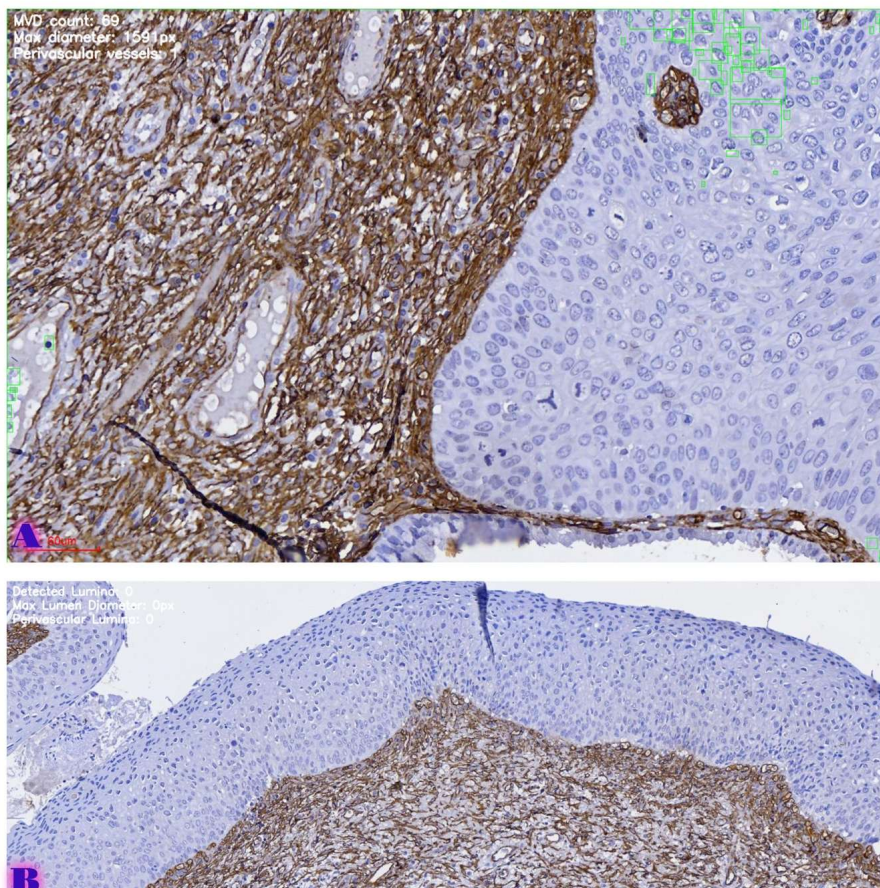
თითოეულ შემთხვევაში $\times 200$ გადიდებით CD34-დადებითი ენდოთელური სტრუქტურები დათვლილი იყო სამ ცხელ წერტილში. MVD მაჩვენებლად განისაზღვრა სისხლმილების საშუალო რაოდენობა mm^2 -ზე.

2. სისხლმილის დიამეტრი

თითოეული CD34-დადებითი სისხლმილის მაქსიმალური დიამეტრი გაზომილი იყო მიკრომეტრებში (მკმ) მის ყველაზე განიერ წერტილში ImageJ-ის გამოყენებით. დაფიქსირდა საშუალო დიამეტრი თითო შემთხვევაზე.

3. სისხლმარღვთა ორიენტაცია

QuPath-ის გამოყენებით, თითოეული სისხლმილის კუთხე გაზომილი იყო ეპითელიურ-სტრომულ ღერძთან მიმართებაში. ორიენტაცია დაყოფილი იყო შემდეგნაირად: პარალელური (0° – 30°); ირიბი (31° – 60°); პერპენდიკულარული ($>60^{\circ}$); დეზორგანიზებული/ქაოტური (ორგანიზებული განლაგების დაკარგვა).



სურათი 2: A. QuPath-ის ალგორითმით შეფასებული სისხლმილთა სანათურის მაქსიმალური დიამეტრი და სისხლმილთა განაწილება IHC, 400X CIN3; B. QuPath-ის ალგორითმით შეფასებული

სტატისტიკური ანალიზი

მონაცემები გაანალიზებულია SPSS ვერსიის 26.0 (IBM Corp.) გამოყენებით. აღწერითი სტატისტიკა (საშუალო, SD, დიაპაზონი) გამოითვლებოდა ყველა რაოდენობრივი პარამეტრისთვის. ჰისტოპათოლოგიურ დიაგნოზსა და სისხლძარღვთა მახასიათებლებს შორის კავშირი შეფასდა: კრუსკალ-ვალის ტესტით მრავალჯერადი ჯგუფის შედარებისთვის; Spearman-ის კორელაცია უწყვეტი ცვლადი ასოციაციებისთვის; p -მნიშვნელობა <0.05 ჩაითვალა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი. გრაფიკები შეიქმნა GraphPad Prism-ისა და SPSS-ის გამოყენებით.

შედეგები

კლინიკური და ჰისტოლოგიური მახასიათებლები: სულ რეტროსპექტულად შესწავლილი იქნა 45 საშვილოსნოს ყელის სხვადასხვა ნოზოლოგიათა ქსოვილის, რომელიც მოიცავდა ხუთ დიაგნოსტიკურ კატეგორიას: ნორმალური საშვილოსნოს ყელი ($n = 9$), CIN1 ($n = 9$), CIN2 ($n = 9$), CIN3 ($n = 9$) და ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა (SCC) ($n = 9$).

პაციენტების ასაკი მერყეობდა 28-დან 62 წლამდე, საშუალო ასაკის პროგრესული ზრდით ჯგუფებში: 30.0 წელი CIN1-ში, 34.0 წელი CIN2-ში, 45.3 წელი CIN3-ში და 53.3 წელი ინვაზიური SCC-ში. ნორმალური საშვილოსნოს ყელის ჯგუფში საშუალო ასაკი იყო 41,7 წელი.

რაც შეეხება მენსტრუალურ სტატუსს, ყველა პაციენტი CIN1 და CIN2 იყო პრემენოპაუზური. ამის საპირისპიროდ, CIN3 და SCC ჯგუფები მოიცავდა პოსტმენოპაუზის ქალების უმრავლესობას (თითოეულ ჯგუფში 9 შემთხვევიდან 6). ნორმალური საშვილოსნოს ყელის ჯგუფი მოიცავდა როგორც პრე- ასევე პოსტმენოპაუზურ შემთხვევებს.

CIN3 და ინვაზიური SCC-ის ყველა შემთხვევა იყო HPV-დადებითი, ხოლო HPV უარყოფითი იყო ყველა CIN1 და ნორმალური საშვილოსნოს ყელის შემთხვევაში. CIN2 ჯგუფში HPV პოზიტიურობა დაფიქსირდა 9 შემთხვევიდან 3-ში (33%).

ყველა ნორმალური საშვილოსნოს ყელის და CIN1 ნიმუში იქნა მიღებული ბიოფსიით, ხოლო CIN3 და SCC შემთხვევების უმეტესობა დიაგნოზირებული იყო კონიზაციის ნიმუშებიდან. CIN2 მოიცავდა ორივე ტიპის მასალებს ბიოფსიას ($n = 6$) და კონიზაციას ($n = 3$).

სისხლძარღვთა რემოდელირება გაანალიზდა იმუნოჰისტოქიმიის ტექნოლოგიის გამოყენებით CD34 ანტისხეულის გამოყენებით. ფოკუსირებული იყო სამ ძირითად პარამეტრზე: მიკროსისხლძარღვთა სიმკვრივე (MVD), სისხლმილთა დიამეტრი და პერივასკულარული ლოკალიზაცია. აღწერილობითი სტატისტიკა საკვლევი ჯგუფების მიხედვით შეჯამებულია ქვემოთ (ცხრილი1):

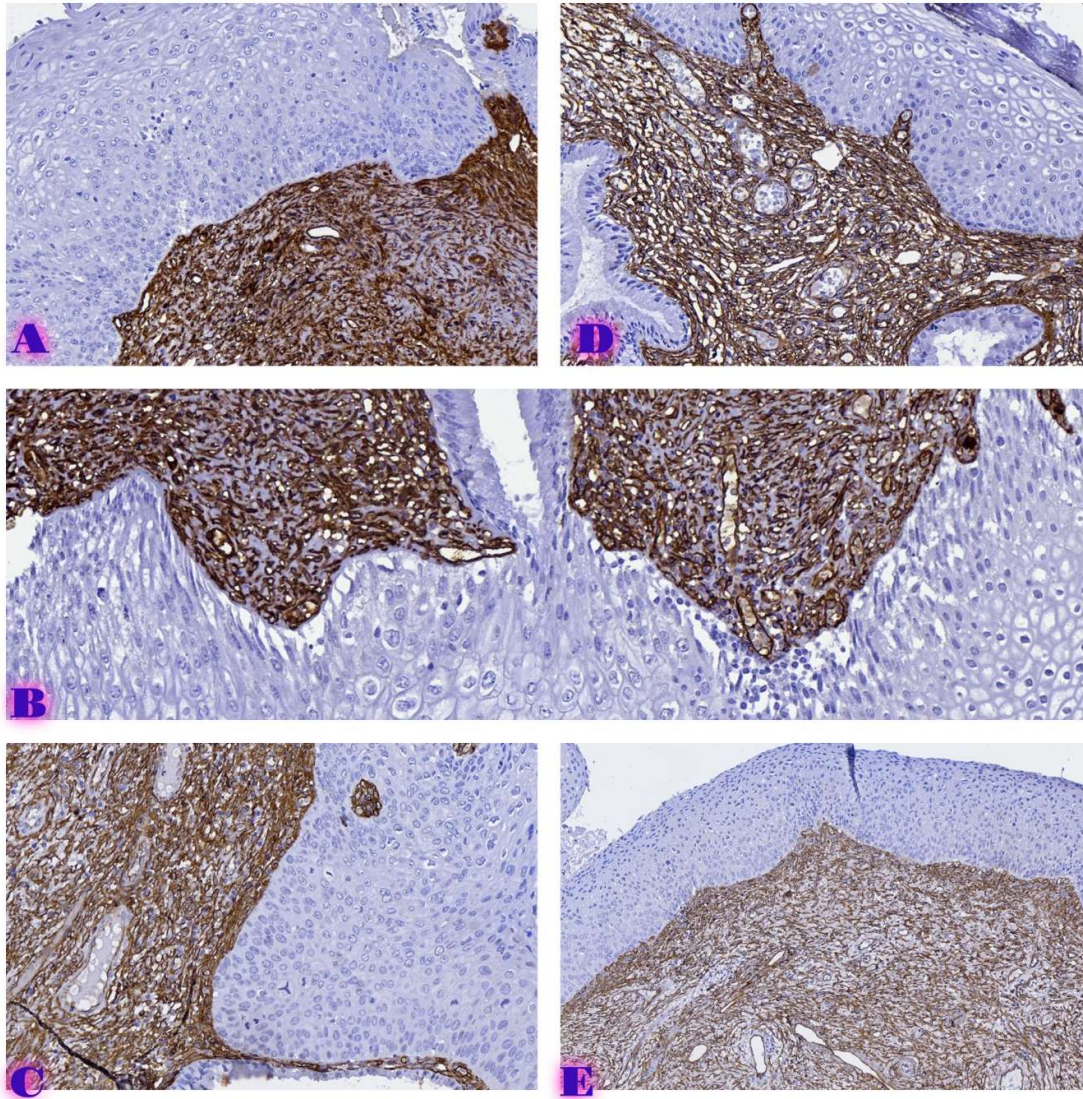
არაპარამეტრულმა ანალიზმა კრუსკალ-ვალის ტესტის გამოყენებით დაადასტურა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავებები ყველა სისხლძარღვთა პარამეტრში ხუთი დიაგნოსტიკური კატეგორიის მიხედვით. კონკრეტულად, CD34-ით შეფასებული მიკროსისხლძარღვების სიმკვრივე (MVD) მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ჯგუფებს შორის ($p = 1.51 \times 10^{-7}$). ანალოგიურად, სისხლმილის დიამეტრი და პერივასკულარული განაწილება

ასევე მნიშვნელოვნად იცვლებოდა ჰისტოლოგიურ სპექტრში, p მნიშვნელობებით 1.85×10^{-8} და 1.90×10^{-8} , შესაბამისად.

დიაგნოზი	MVD (საშუალო $\pm$ SD)	სისხლმილთა დიამეტრი (μm , mean $\pm$ SD)	ვასკულური განაწილება (mean $\pm$ SD)
საკონტროლო ჯგუფი	90.0 $\pm$ 0.0	4.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
CIN1	113.3 $\pm$ 2.5	10.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0
CIN2	130.0 $\pm$ 0.0	11.3 $\pm$ 0.5	2.0 $\pm$ 0.0
CIN3	181.7 $\pm$ 58.1	16.7 $\pm$ 2.5	2.7 $\pm$ 0.5
ინვაზიური SCC	248.3 $\pm$ 6.6	19.3 $\pm$ 2.0	3.0 $\pm$ 0.0

ცხრილი 1: აღწერილობითი სტატისტიკა საკვლევ ჯგუფებში სისხლმილთა განაწილების სიმკვრივის, სისხლმილთა დიამეტრისა და პერივასკულური ლოკალიზაციის შეფასებით.

დაზიანების სიმძიმესა და სისხლძარღვთა რემოდელირებას შორის კავშირის შემდგომი შესაფასებლად ჩატარდა სპირმანის რანგის კორელაციის ანალიზი. რომელმაც გამოავლინა ძლიერი დადებითი კორელაცია დაზიანების ჰისტოლოგიურ ხარისხსა და MVD-ს ($p = 0.89$, $p < 0.01$), სისხლმილის დიამეტრს ($p = 0.97$, $p < 0.01$) და პერივასკულარულ ქულას ($p = 0.97$, $p < 0.01$) შორის. ეს დასკვნები ერთობლივად აჩვენებს, რომ დაზიანების სიმძიმის ხარისხის გაზრდა მჭიდროდ არის დაკავშირებული სისხლძარღვების რაოდენობასთან და მორფოლოგიურ კომპლექსურობასთან.

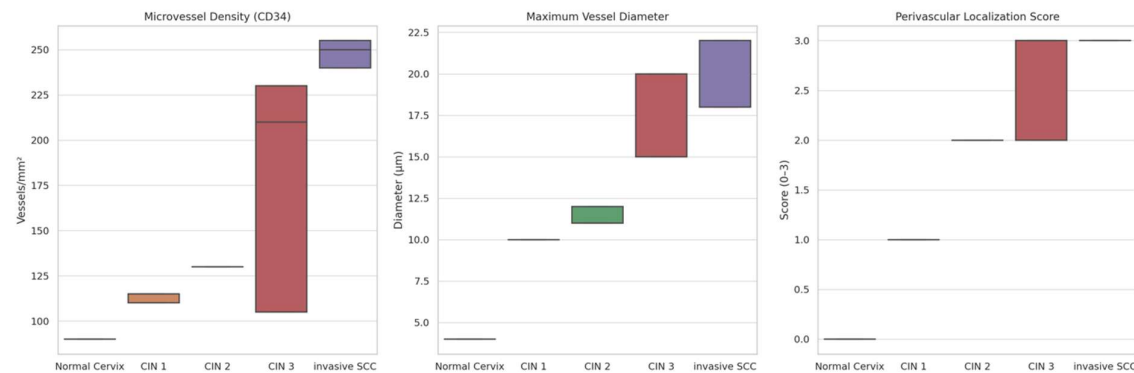


სურათი 3. A. CD34-ის ექსპრესია CIN3-ის საკვლევი ჯგუფში 200X IHC; B. CD34-ის ექსპრესია CIN2-ის საკვლევი ჯგუფში 400X IHC; C. CD34-ის მაღალი ხარისხის ექსპრესია CIN3-ის საკვლევი ჯგუფში 200X IHC; D. CD34-ის მაღალი ხარისხის ექსპრესია და სისხლძირითა დიზორგანიზაცია CIN2-ის საკვლევი ჯგუფში 200X IHC; E. CD34-ის ექსპრესია CIN3-ის საკვლევი ჯგუფში carcinoma in situ-ს თანაარსებობით 200X IHC;

სისხლძირითა ორიენტაციისა და სივრცითი განაწილების ხარისხობრივი ცვლილებები ასევე შეინიშნებოდა ნორმალურ საშვილოსნოს ყელსა და CIN1-ში. სტრომული სისხლძირითა აღინიშნებოდა მცირე ზომის, ერთგვაროვანი და, როგორც წესი, პარალელური იყო ეპითელური-სტრომული შეერთების, ინარჩუნებდა მოწესრიგებულ სისხლძირითა არქიტექტურას. CIN2 დაზიანებების დროს გამოვლინდა დეზორგანიზაციის ადრეული ნიშნები, სისხლძირითა აჩვენებდნენ არარეგულარულ ორიენტაციას, დიამეტრის ზომიერ ზრდას და საწყისი პერივასკულარული კლასტერიზებას ბაზალური მემბრანის მახლობლად. პროგრესირებას CIN3-მდე და ინვაზიურ ბრტყელუჯრედოვან კარცინომამდე თან ახლდა გამოხატული სისხლძირითა განაწილების დარღვევა, აღინიშნებოდა ქაოტური სისხლძირითა განაწილება, სისხლძირითა მდებარეობდა ეპითელიუმის

პერპენდიკულარულად ან დახრილად, აღინიშნებოდა სანათურის გაფართოება და მკვრივი კლასტერიზაცია დისპლაზიის უბნების ქვეშ.

ეს სივრცითი და არქიტექტურული დიზორგანიზაცია, სავარაუდოდ, ასახავს აქტიურ ანგიოგენურ პროცესს სტრომული მიკროგარემოს ფარგლებში მატრიქსის რემოდელირებასთან და ეპითელიურ-სტრომული კავშირების დაკარგვასთან ერთად. ასეთმა ცვლილებებმა შეიძლება ხელი შეუწყოს მეტაბოლური პროცესების გაზრდას, ეპითელიურ-მეზენქიმურ ურთიერთქმედებებს და, შესაძლოა, სიმსივნის შეჭრის ადრეულ მექანიზმებს.



დიაგრამა 5: მიკროვასკულატურის სიმკვრივის, სისხლმილთა დიამეტრისა და პერივასკულური განლაგების განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

განსჯა

ჩვენი კვლევა ხაზს უსვამს სისხლძარღვთა რემოდელირების თავისებურებებს საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელიურ ნეოპლაზიასა და ინვაზიურ კარცინომაში, რომელიც რაოდენობრივად განსაზღვრულია იმუნოჰისტოქიმიისა და ციფრული მორფომეტრიული ხელსაწყოების მეშვეობით.

MVD-ის, სისხლმილთა დიამეტრისა და ვასკულარული ლოკალიზაციის მნიშვნელოვანი ზრდა დაფიქსირდა საკვლევ ჯგუფებს შორის ნორმალური ეპითელიუმიდან ინვაზიურ SCC-მდე. ეს ცვლილებები იყო სტატისტიკურად სარწმუნო რაც მხარს უჭერდა ჰიპოთეზას, რომ ანგიოგენეზი არ არის მხოლოდ ინვაზიური კიბოს მახასიათებელი, არამედ თანდათანობით ჩნდება დისპლაზიური ტრანსფორმაციის დროს.

მნიშვნელოვანია, რომ ციფრული პათოლოგიის მიდგომა არა მხოლოდ უზრუნველყოფდა ობიექტურ შეფასებას, არამედ საშუალებას გვაძლევდა სისხლმილების მორფოლოგიის ვიზუალიზაციას. ჩვენი კვლევის შედეგები ემთხვევა წინა კვლევებს, რომლებიც ვარაუდობენ, რომ სტრომული რეპროგრამირება წინ უსწრებს ეპითელიუმის ინვაზიურ მდგომარეობამდე გადასვლას და პერივასკულარული განაწილების კორელაცია CIN ხარისხთან შეიძლება დაეხმაროს კლინიცისტებს უფრო მაღალი ავთვისებიანი პოტენციალის CIN2/3 მქონე დაზიანებების იდენტიფიცირებაში.

დასკვნა

ჩვენი კვლევა აჩვენებს, რომ სისხლძარღვთა რემოდელირება არის საშვილოსნოს ყელის ნეოპლაზიური ტრანსფორმაციის პროგრესული და რაოდენობრივი მახასიათებელი. CD34 იმუნოჰისტოქიმიის გამოყენებით ციფრულ პათოლოგიასთან ერთად, ჩვენ გამოვავლინეთ მიკროსისხლძარღვების სიმკვრივის, სისხლძარღვის დიამეტრის და პერივასკულარული სივრცითი განაწილების მნიშვნელოვანი ზრდა ნორმალური საშვილოსნოს ყელიდან CIN1-CIN3-მდე და ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომამდე განვითარებაში.

ეს სისხლძარღვთა ცვლილებები ძლიერ კორელაციაშია ჰისტოლოგიურ დაზიანებათა სიმძიმესთან და განსაკუთრებით გამოხატულია მაღალი ხარისხის დაზიანებებში, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ანგიოგენეზი იწყება დისპლაზიის დასაწყისში და ძლიერდება პროგრესირებისას. ჩვენი კვლევის შედეგები ხაზს უსვამს ციფრული მორფომეტრიული ანალიზის მნიშვნელობას საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიაში და მხარს უჭერს სისხლძარღვთა მახასიათებლების პოტენციურ პრედიქტურ როლს, როგორც დიაგნოსტიკური ასევე პროგნოზული თვალსაზრისით. მომავალი კვლევები, რომლებიც მოიცავს მიკროგარემოს იმუნურ და ნერვულ კომპონენტებს, არსებითი იქნება საშვილოსნოს ყელის კარცინოგენეზში სისხლძარღვთა-სტრომული თავისებურებებისა და მისი კლინიკური სარგებლობის სრულად გამოსავლენად.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] T. Svanadze, S. Kepuladze, N. Tevzadze, and G. Burkadze, "ASSESSMENT OF PROLIFERATIVE ACTIVITY OF DIFFERENT TYPES OF SQUAMOUS CELL METAPLASIA OF THE CERVIX USING AgNor TECHNOLOGY," ქართველი მეცნიერები, vol. 5, no. 2, pp. 275–287, Jun. 2023, doi: 10.52340/gs.2023.05.02.35.
- [2] A. Alrajjal, V. Pansare, M. S. R. Choudhury, M. Y. A. Khan, and V. B. Shidham, "Squamous intraepithelial lesions (SIL: LSIL, HSIL, ASCUS, ASC-H, LSIL-H) of Uterine Cervix and Bethesda System," Cytojournal, vol. 18, p. 16, 2021, doi: 10.25259/CYTOJOURNAL_24_2021.
- [3] A. Harsh, R. Tondon, H. K. Harsh, and E. Professor, "Utility of AgNOR Count in Non-Neoplastic and Neoplastic Lesions of the Uterine Cervix," Original Research Article, vol. 198, no. 1, pp. 198–201, 2018, doi: 10.21276/ijmrp.2018.4.1.039.
- [4] B. Boilly, S. Faulkner, P. Jobling, and H. Hondermarck, "Nerve Dependence: From Regeneration to Cancer," Cancer Cell, vol. 31, no. 3, pp. 342–354, Mar. 2017, doi: 10.1016/J.CCELL.2017.02.005.
- [5] S. A. Hong, S. H. Yoo, J. Choi, S. J. Robboy, and K.-R. Kim, "A Review and Update on Papillary Immature Metaplasia of the Uterine Cervix: A Distinct Subset of Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion, Proposing a Possible Cell of Origin.," Arch Pathol Lab Med, vol. 142, no. 8, pp. 973–981, Aug. 2018, doi: 10.5858/arpa.2017-0267-OA.

- [6] S. Faulkner, P. Jobling, B. March, C. C. Jiang, and H. Hondermarck, “Tumor neurobiology and the war of nerves in cancer,” *Cancer Discov*, vol. 9, no. 6, pp. 702–710, Jun. 2019, doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-1398.
- [7] მიმოხილვაკრიტიკული, გოგიტიძეგიორგი, კეპულაძეშოთა, თევზაძენინო, and ბურკაძეგიორგი, “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.
- [8] H. K. Mehdi, K. Raju, and S. R. Sheela, “Association of P16, Ki-67, and CD44 expression in high-grade squamous intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the cervix,” *J Cancer Res Ther*, vol. 19, no. Supplement, pp. S260–S267, Apr. 2023, doi: 10.4103/JCART.JCART_43_21.
- [9] C. Magnon et al., “Autonomic nerve development contributes to prostate cancer progression,” *Science* (1979), vol. 341, no. 6142, 2013, doi: 10.1126/SCIENCE.1236361.
- [10] M. Arese, F. Bussolino, M. Pergolizzi, L. Bizzozero, and D. Pascal, “Tumor progression: the neuronal input,” *Ann Transl Med*, vol. 6, no. 5, pp. 89–89, Mar. 2018, doi: 10.21037/ATM.2018.01.01.
- [11] S. Gillespie and M. Monje, “The Neural Regulation of Cancer,” *Annu Rev Cancer Biol*, vol. 4, pp. 371–390, Mar. 2020, doi: 10.1146/ANNUREV-CANCERBIO-030419-033349.
- [12] L. Gao, H. Bo, Y. Wang, J. Zhang, and M. Zhu, “Neurotrophic factor Artemin promotes invasiveness and neurotrophic function of pancreatic Adenocarcinoma in vivo and in vitro,” *Pancreas*, vol. 44, no. 1, pp. 134–143, Jan. 2015, doi: 10.1097/MPA.0000000000000223.
- [13] C. T. Lucido et al., “Innervation of cervical carcinoma is mediated by cancer-derived exosomes,” *Gynecol Oncol*, vol. 154, no. 1, pp. 228–235, Jul. 2019, doi: 10.1016/J.YGYNO.2019.04.651.
- [14] J. Bründl, S. Schneider, F. Weber, F. Zeman, W. F. Wieland, and R. Ganzer, “Computerized quantification and planimetry of prostatic capsular nerves in relation to adjacent prostate cancer foci,” *Eur Urol*, vol. 65, no. 4, pp. 802–808, Apr. 2014, doi: 10.1016/J.EURURO.2013.04.043.

Vascular Remodeling Across the Spectrum of Cervical Intraepithelial Neoplasia and Squamous Cell Carcinoma: A Digital Pathology-Based Morphometric and Immunohistochemical Analysis

Abstract

Angiogenesis is a critical component of tumour progression, yet its role in precancerous lesions of the cervix remains underexplored. Cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grades 1 to 3 represent a histological continuum toward invasive squamous cell carcinoma (SCC), primarily driven by persistent high-risk human papillomavirus (HPV) infection. This study investigates vascular remodelling across the CIN spectrum and SCC using morphometric and immunohistochemical (IHC) approaches.

Methods: Archival cervical tissue samples (n=5; normal cervix, CIN1–CIN3, invasive SCC) were retrieved from the Tbilisi State Medical University laboratory. Clinical data included patient age, HPV status, and menstrual status. IHC for CD34 and CD31 was performed. Digital pathology analysis using Motic EasyScan, QuPath, and ImageJ assessed microvessel density (MVD), vessel diameter, vascular orientation, perivascular localisation, inflammation, and fibrosis.

Results: CD34-based MVD increased progressively from the normal cervix (90 vessels/mm²) to invasive SCC (250 vessels/mm²). Vessel diameter expanded from 4 µm in normal tissue to 20 µm in CIN3. Vascular orientation shifted from parallel to chaotic. Perivascular clustering and VEGF expression also intensified with lesion grade. All vascular features showed a strong positive correlation with CIN severity (Spearman $\rho > 0.89$; $p < 0.01$). Kruskal-Wallis testing confirmed significant differences across groups ($p < 0.01$ for MVD, diameter).

This study highlights progressive vascular remodelling as a key feature of CIN advancement and transition to invasive carcinoma. Combined morphometric and IHC analysis reveals early and measurable changes in the cervical stromal microvasculature, with implications for early diagnosis, biomarker development, and therapeutic targeting of angiogenesis in cervical neoplasia.

Keywords: Cervical intraepithelial neoplasia, angiogenesis, CD34, digital pathology, microvessel density, HPV, vascular orientation, squamous cell carcinoma, immunohistochemistry

ავტორთა შესახებ ინფორმაცია

გიორგი გოგიტიძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი;
გინეკოლოგი

George Gogitidze – PhD student 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>