

ნერვული მიკროგარემოს რემოდელირების თავისებურებები საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელურ ნეოპლაზიასა და ბრტყელუჯრედოვან კარცინომაში გიორგი-ჯემალ გოგიტიძე¹; შოთა კეპულაძე²; გიორგი ბურკაძე³

¹თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი; გინეკოლოგი; ²თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგანატომი; მედიცინის აკადემიური დოქტორი
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5919-5581>; ³თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის
მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი, პროფესორი; ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-5028-4537>

აბსტრაქტი

მიუხედავად იმისა, რომ ეპითელიუმის დისპლაზიასა და HPV ინფექციას ცენტრალური როლი უჭირავს საშვილოსნოს ყელის კარცინოგენეზში, სტრომული მიკროგარემოს ცვლილებები და ნერვული რემოდელირება ჯერ კიდევ ყველაზე ნაკლებად შესწავლილ სფეროდ რჩება. ჩვენი კვლევა შეისწავლის პერიფერიული ნერვული ბოჭკოებისა და ბუნებრივი მკვლეელი უჯრედების (NK Cells) განაწილებას საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელურ ნეოპლაზიისა და ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომის სპექტრში. საშვილოსნოს ყელის ორმოცდახუთი ნიმუში (9 ნორმალური, CIN1, CIN2, CIN3 და SCC) დამატებით შეიღება PGP9.5, S100, CD56 და CD34-ის ანტისხეულების გამოყენებით. ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივე, ნერვული ბოჭკოს მაქსიმალური დიამეტრი და დამორება ბაზალური მემბრანიდან რაოდენობრივად, ხოლო S100 და CD56 ექსპრესია ნახევრად რაოდენობრივად იქნა შეფასებული. დაფიქსირდა PGP9.5-დადებითი ნერვული ბოჭკოების პროგრესული ზრდა CIN1-დან SCC-მდე, რასაც ასევე თან ახლავს ნერვული ბოჭკოების დიამეტრის გაზრდა. S100 ექსპრესია მომატებული იყო განსაკუთრებით HPV-დადებითი CIN3 და SCC შემთხვევებში. ნერვული ბოჭკოების პერიეპითელური კლასტერირება საგრძნობლად მომატებული იყო მაღალი ხარისხის დაზიანებებში, რაც მიუთითებს ადრეულ პერინეოპლაზიურ ნერვულ რემოდელირებაზე. ნერვული ბოჭკოების ჰიპერტროფია პროგრესულად მატულობდა დისპლაზიის მატებასთან ერთად. ნაწილი ბოჭკოების არის ჩვეულებრივი ნაწილი კი ნეოანგიოგენეზის შედეგად მიღებული ნეოგენური ბოჭკოები. CIN3 და SCC შემთხვევებში NK (ბუნებრივი მკვლეელი უჯრედები) მკვეთრად შემცირებულია, რაც იმით აიხსნება, რომ ამ ეტაპზე დომინირებს ნეონეოგენური ბოჭკოების არსებობა. თავდაპირველად დისპლაზიის დაბალ ხარისხის შემთხვევებში ჰიპერტროფიასთან ერთად მატულობს NK უჯრედების ჰიპერპლაზია თუმცა CIN3 და SCC შემთხვევებში მისი რაოდენობა

მინიმალურია. რაც შესაძლოა წარმოადგენდეს ნეირორეგულაციიდან გაქცევის/სიმსივნის იმუნური სისტემისაგან გაქცევის გამოვლინებას.

აღნიშნული შედეგები შესაძლოა სამომავლოდ გამოყენებული იქნას იმუნოთერაპიული საშუალებების დახვეწასა და NK-ტარგეტული საშუალებების შემუშავებაში.

საკვანძო სიტყვები: საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია, PGP9.5, S100, CD56, ნერვული რემოდელირება, HPV, საშვილოსნოს ყელის კიბო, სიმსივნის მიკროგარემო.

შესავალი

საშვილოსნოს ყელის კიბო მსოფლიოს მასშტაბით კვლავ მეოთხე ადგილზეა ქალთა პოპულაციაში. GLOBOCAN 2020-ის მიხედვით, ყოველწლიურად აღირიცხება საშვილოსნოს ყელის კიბოსთან დაკავშირებული 600,000-ზე მეტი ახალი შემთხვევა და დაახლოებით 340,000 ლეტალური გამოსავალი[1]. ინციდენტობის ტვირთი ყველაზე მნიშვნელოვანია დაბალი და საშუალო შემოსავლის მქონე ქვეყნებში, სადაც ორგანიზებული სკრინინგისა და HPV ვაქცინაციის პროგრამები შეზღუდულია. საშვილოსნოს ყელის კარცინომის განვითარება მტკიცედ არის დაკავშირებული მაღალი რისკის მქონე ადამიანის პაპილომავირუსის (HPV) მუდმივ ინფექციასთან, ძირითადად HPV16 და HPV18 ტიპის, რომლებიც დაკავშირებულია შემთხვევების 70%-ზე მეტთან[2].

საშვილოსნოს ყელის კარცინოგენეზი მიჰყვება საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის (CIN) კარგად განსაზღვრულ წინამორბედ გზას, რომელიც ჰისტოლოგიურად კლასიფიცირებულია სამ ხარისხად - CIN1 (მსუბუქი დისპლაზია), CIN2 (ზომიერი დისპლაზია) და CIN3 (მძიმე დისპლაზია ან კარცინომა in situ). ეს სპექტრი ასახავს ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომის პროგრესირების მზარდ რისკს. მიუხედავად იმისა, რომ ვირუსული ონკოგენის ექსპრესია (E6/E7) და მასპინძელი უჯრედის გენომური არასტაბილურობა პროგრესირებისას კრიტიკული მოლეკულური მოვლენებია, მზარდი მტკიცებულება ვარაუდობს, რომ ცვლილებები სიმსივნის მიკროგარემოში - იმუნური, სტრომული, სისხლძარღვთა და ნერვული ელემენტების ჩათვლით - აქტიურ როლს თამაშობს ამ ტრანსფორმაციის მოდულაციაში[3].

მიუხედავად იმისა, რომ იმუნური სისტემის ზედამხედველობის აცილებამ და ანგიოგენეზმა მნიშვნელოვანი ყურადღება მიიპყრო საშვილოსნოს ყელის კიბოს კვლევაში, ნეოპლასტიურ პროგრესირებაში ნერვული რეგულაციისა და სტრომული ინერვაციის როლი დიდწილად შეუსწავლელია. თუმცა, მზარდი კვლევები სიმსივნეების სხვადასხვა ტიპებზე - პროსტატის, სარძევე ჯირკვლის, პანკრეასის, თავ-კისრის კიბოს ჩათვლით - ასახავს სხვადასხვა ინტენსივობის ნეიროგენეზს, რომელიც განისაზღვრება როგორც სიმსივნის სტრომაში ახალი ნერვული ბოჭკოების დაგროვება ან წარმოქმნა, როგორც კიბოს ბიოლოგიის ძირითადი კომპონენტი. ასეთი ცვლილებების აქტუალობამ საშვილოსნოს ყელის დაზიანებებში, განსაკუთრებით კიბოსწინარე დისპლაზიიდან ინვაზიურ დაავადებაზე გადასვლისას, სულ ახლახან მიიპყრო მკვლევართა მზარდი ინტერესი[4].

ნეირორეგულაცია ავთვისებიან სიმსივნეებში ეხება, როგორც ნერვული ბოჭკოების უშუალო არსებობას და სტრუქტურულ რემოდელირებას სიმსივნის მიკროგარემოში, ასევე კიბოს უჯრედებსა და ნერვულ ელემენტებს შორის არაპირდაპირ კავშირს. სოლიდური სიმსივნის კონტექსტში, მიკროგარემო ხშირად განიცდის პერინევრულ ინვაზიას (PNI) ან პერინეოპლაზიურ ნერვულ რემოდელირებას, სადაც ნერვული ბოჭკოები გროვდება, გაფართოებულია ან გადაადგილდება სიმსივნის ზრდის მხარდასაჭერად[5].

კიბოს მრავალ მოდელში, მათ შორის პროსტატის, კუჭისა და პანკრეასის კიბოს, ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივე (NFD) დაკავშირებულია სიმსივნის ავთვისებიანობის ხარისხთან, ინვაზიასთან, ტკივილის სიმძიმესთან და პროგნოზთან. მაგალითად, პროსტატის კიბოს კვლევებმა გამოავლინა პერინევრული ინვაზია, როგორც ცუდი შედეგის დამოუკიდებელი პროგნოზირების ფაქტორი, ხოლო პანკრეასის კიბოს დროს, ჭარბი ინერვაცია დაკავშირებულია ნერვული პლასტიურობისა და მკურნალობის მიმართ წინააღმდეგობის გაზრდასთან[6].

თუმცა, საშვილოსნოს ყელის კიბოს დროს, ნეირონული ინფილტრაციის, რემოდელირების ან ნეოფორმაციის არსებობას კიბოსწინარე სტადიაზე შეზღუდული ყურადღება ექცევა. მიუხედავად ამისა, ჰისტოლოგიური გამოკვლევა ხშირად ავლენს ნერვული ბოჭკოების ჰიპერტროფიას განსაკუთრებით მაღალი ხარისხის დისპლაზიისა და ინვაზიური კარცინომის დროს. არის თუ არა ეს ცვლილებები რეაქტიული, გამოწვეული სიმსივნისგან მიღებული ნეიროტროფიული ფაქტორებით მონაწილეობს თუ არა დაავადების პროგრესირების ხელშეწყობაში, ჯერ კიდევ პასუხგაუცემელი რჩება [7].

კვლევები ვარაუდობენ, რომ სიმსივნეებს შეუძლიათ აქტიურად გამოიწვიონ ნერვული პლასტიურობა, ფენომენი, რომელსაც ეწოდება "ნეონეიროგენეზი". კიბოს უჯრედები გამოყოფენ ნეიროტროფული ფაქტორების ფართო სპექტრს - როგორიცაა ნერვული ზრდის ფაქტორი (NGF), ტვინისგან მიღებული ნეიროტროფული ფაქტორი (BDNF), გლიური უჯრედებიდან მიღებული ნეიროტროფული ფაქტორი (GDNF) და სემაფორინები - რომლებსაც შეუძლიათ აქსონების მოზიდვა, სინაფსური წარმოქმნის მოდულირება ან შვანის უჯრედების მიგრაციის ხელშეწყობა[8].

NGF და BDNF განსაკუთრებით მონაწილეობენ სიმპატიკური ან სენსორული ინერვაციის ფორმირებაში სიმსივნურ ქსოვილებში. ეს მოლეკულური გზები ხელს უწყობს აქსონურ პროლიფერაციას, ურთიერთქმედებს სიმსივნის სისხლძარღვებთან და შესაძლოა სიმსივნურ უჯრედებთან სინაფსის მსგავსი სტრუქტურებიც კი დაამყაროს. ამ დინამიურ კომუნიკაციას შეუძლია გავლენა მოახდინოს სიმსივნის ზრდაზე, იმუნურ ინფილტრაციასა და ტკივილზე, რაც ქმნის იმას, რასაც ზოგიერთი მკვლევარი აღწერს, როგორც ნერვულ-იმუნურ-სიმსივნურ ღერძს.

საშვილოსნოს ყელის ქსოვილში, პერიფერიული ინერვაციის ნორმალური ფიზიოლოგიური როლი მოიცავს სისხლძარღვთა ტონის ავტონომიურ კონტროლს, ეპითელიუმის მთლიანობას და იმუნურ მეთვალყურეობას. როდესაც ნეოპლასტიური ტრანსფორმაცია ხდება, ეს ნერვული რეგულაცია შეიძლება დაირღვეს და გადაპროგრამდეს[9].

საშვილოსნოს ყელის ნეოპლაზიაში ნეირორეგულაციისა და სტრომული ინერვაციის გამოსაკვლევად სასარგებლოა რამდენიმე იმუნოჰისტოქიმიური მარკერი:

PGP9.5 (პროტეინის გენის პროდუქტი 9.5): უბიკვითინის კარბოქსილ-ტერმინალური ჰიდროლაზა, ფართოდ გამოიყენება როგორც პან-ნეირონული მარკერი, როგორც მიელინირებული, ასევე არამიელინირებული ბოჭკოებისთვის. იგი ავლენს აქსონებს, მცირე ნერვულ ტოტებს და პერიფერიულ ბოჭკოებს მაღალი მგრძნობელობით.

S100 ცილა: განსაზღვრავს შვანის უჯრედებსა და გლიურ ელემენტებს და განსაკუთრებით სასარგებლოა ნერვული გარსების და პერინევრული სტრუქტურების გამოსავლენად. PGP9.5 და S100-თან ერთად შეღებვა აუმჯობესებს პერიფერიული ნერვული სტრუქტურების სპეციფიურობის გამოვლენას.

CD56 (NCAM): მიუხედავად იმისა, რომ ასევე ექსპრესირებულია ბუნებრივი მკვლეელი (NK) უჯრედების მიერ და ზოგიერთი ეპითელურ სიმსივნეში, CD56-ს შეუძლია ექსპრესირებდეს ნერვულ ღეროდან წარმოებულ უჯრედებში. მისი არსებობა დისპლასტიური ეპითელიუმის მახლობლად შეიძლება მიუთითებდეს პერინეოპლასტიკურ რემოდელირებაზე.

CD34: მიუხედავად იმისა, რომ ტრადიციულად სისხლძარღვთა ენდოთელური მარკერია, CD34 შეღებვა ასევე ხელს უწყობს სისხლძარღვებით მდიდარი სტრომული რეგიონების იდენტიფიცირებას, რაც სასარგებლოა ნერვული ბოჭკოების სიახლოვის სისხლძარღვებთან და პოტენციური ნეიროანგიოგენური ნიმუშების შესამოწმებლად[10].

საშვილოსნოს ყელის ტრანსფორმაციის ზონა არის ეპითელური მეტაპლაზიის, ჰორმონური რეაქციის, იმუნური ზემოქმედების უნიკალური ადგილი. ამ ზონაში მყოფი ნერვული კომპონენტები შეიძლება მოქმედებენ როგორც ლოკალური ჰომეოსტაზის მცველები ან მოდულატორები. როგორც ეპითელური უჯრედები ხდება დისპლასტიკური, მათ შეუძლიათ შეცვალონ მათი ურთიერთქმედება მიმდებარე ნერვებთან - ნეიროტროფიული ფაქტორების სეკრეციით, უჯრედგარე მატრიქსის რემოდელირებით ან იმუნური პასუხის შეცვლით[11].

ნეიროეპითელური-სტრომული ღერძის შემოთავაზებული კონცეფცია გულისხმობს, რომ ნერვული სტრუქტურები არ არიან პასიური მონაწილეები, არამედ აქტიური მოთამაშეები სიმსივნური მიკროგარემოს ურთიერთმიმართებაში. ნერვულ ბოჭკოებს შეუძლიათ ანგიოგენეზის რეგულირება, იმუნური უჯრედების მოზიდვის მოდულირება ან თუნდაც ტრანსფორმირებული ეპითელური უჯრედების მიგრაციულ და ინვაზიურ ქცევაზე გავლენა.

მასალები და მეთოდები

ჩვენი კვლევა მოიცავდა სულ ორმოცდახუთ ფორმალინში ფიქსირებულ და პარაფინში ჩაყალიბებულ (FFPE) საშვილოსნოს ყელის ქსოვილის ნიმუშებს, რომლებიც ამოღებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სასწავლო, სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის პათოლოგიის არქივიდან (2017-2025). შერჩეული შემთხვევები დაყოფილი იყო ხუთ დიაგნოსტიკურ ჯგუფად, თითოეული შედგებოდა ცხრა შემთხვევისგან: ჰისტოლოგიურად ნორმალური საკონტროლო საშვილოსნოს ყელი, საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია 1 ხარისხი (CIN1), ხარისხი 2 (CIN2), ხარისხი 3 (CIN3) და ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა (SCC). ყველა შემთხვევა გადაიხედა ორი დამოუკიდებელი პათოლოგანატომის მიერ დიაგნოსტიკური სიზუსტის უზრუნველსაყოფად. შესაბამისი კლინიკური მონაცემები, მათ შორის პაციენტის ასაკი, HPV სტატუსი, მენსტრუალური სტატუსი (პრემენოპაუზური ან პოსტმენოპაუზური) და ნიმუშის ტიპი (ბიოფსია ან კონიზაცია) დაფიქსირდა სტატისტიკური კორელაციისთვის.

იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვა ჩატარდა სერიულ 3-4 მკმ ანათომებზე ავტომატური Leica Bond Max გამოყენებით. პირველადი ანტისხეულები მოიცავდა PGP9.5 (Z0311, Leica, 1:200 განზავება), S100 ცილა (პოლიკლონალური, Leica, 1:400), CD56 (კლონი 123C3, Leica, 1:100) და CD34 (კლონი QBEnd/10, Leica, 1:1). ანტიგენის აღდგენა და ვიზუალიზაცია განხორციელდა სტანდარტული DAB ქრომოგენის გამოყენებით. დადებითი და უარყოფითი კონტროლი გამოყენებული იყო თითოეულ შემთხვევაში იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვის სანდოობის დასადასტურებლად.

ყველა შეღებილი სლაიდი გაციფრულებულ იქნა MoticEasyScan სლაიდ სკანერის გამოყენებით მაღალი გარჩევადობით (200× და 400×). იმუნორეაქტიულობის რაოდენობრივი და სივრცითი ანალიზი ჩატარდა QuPath და ImageJ პროგრამული უზრუნველყოფის კომბინაციის გამოყენებით, რაც საშუალებას აძლევს მორფომეტრულ გაზომვებს და ველის თანმიმდევრულ შერჩევას ყველა შემთხვევაში. თითოეული შემთხვევისთვის ხუთი წარმომადგენლობითი მაღალი გადიდების ველი (HPF) შეირჩა სტრომული ზონიდან პირდაპირ ეპითელიური ბაზალური მემბრანის ან სიმსივნის ფრონტის ქვეშ.

PGP9.5 იმუნორეაქტიულობა იყო გამოყენებული პერიფერიული ნერვული ბოჭკოების იდენტიფიცირებისთვის. თითოეული შემთხვევისთვის, ნერვული ბოჭკოების რაოდენობა გამოითვლებოდა მმ²-ზე. გარდა ამისა, დაფიქსირდა ნერვული ბოჭკოს მაქსიმალური დიამეტრი (მკმ) და მინიმალური მანძილი უახლოეს ნერვულ ბოჭკოსა და ეპითელიუმის ბაზალურ მემბრანას შორის. ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივე შეფასდა ნახევრად რაოდენობრივად შემდეგი კრიტერიუმების მიხედვით: 0-დან 1 ბოჭკო/მმ² (არც ერთი იშვიათი), 2-დან 5 ბოჭკო/მმ² (ზომიერი) და 5-ზე მეტი ბოჭკო/მმ² (ძლიერი სტრომული რემოდელირების მანიშნებელია).

S100 იმუნოპოზიტიურობა, რომელიც გამოიყენება შვანის უჯრედებისა და ნერვული გარსების იდენტიფიცირებისთვის, შეფასებული იყო ნახევრად რაოდენობრივად იმავე ხუთ HPF-ში. შედეგა შეფასდა შემდეგნაირად: 0 (არ აღინიშნება), 1 (იშვიათი იზოლირებული S100-დადებითი უჯრედები), 2 (ფოკალური პოზიტიურობა მცირე ნერვულ ბოჭკოებში) და 3 (მკვერივი კლასტერული ან შვანის უჯრედების პოზიტიურობა სამ ან მეტ HPF-ში). როგორც ბირთვული, ასევე ციტოპლაზმური იმუნორეაქტიულობა დადებითად იქნა მიჩნეული.

CD56 ექსპრესია შეფასებული იყო როგორც შედეგის ინტენსივობის, ასევე განაწილების ტიპის საფუძველზე. საბოლოო ქულაში ჩართული იყო მხოლოდ ნერვული ბოჭკოების პოზიტიურობა, ხოლო ლიმფოციტური ან ეპითელიური უჯრედების გრანულური ან ციტოპლაზმური ექსპრესია იყო გამორიცხული. CD56 შედეგა შეფასდა შემდეგნაირად: 0 (უარყოფითი), 1+ (სუსტი და ლაქისებრი), 2+ (ზომიერი ინტენსივობა) და 3+ (ძლიერი).

CD34 იმუნოჰისტოქიმია გამოიყენებოდა მხოლოდ სტრომული სისხლძარღვების ადგილმდებარეობისა და განაწილების დასადგენად. მიუხედავად იმისა, რომ CD34 არ იყო შეფასებული ინტენსივობისთვის, ის ემსახურებოდა სივრცულად ნერვული ბოჭკოების პერივასკულარული ლოკალიზაციის დასადგენად. ნერვული ბოჭკო ჩაითვალა პერივასკულარულად, თუ ის განლაგებულია CD34-დადებითი სისხლძარღვის 50 μm -ში. პერივასკულარული ნერვული სტრუქტურების რაოდენობა HPF-ზე დაფიქსირდა და გამოიყენებოდა პოტენციური ნეიროვასკულური რემოდელირების შესაფასებლად.

აღწერილობითი სტატისტიკა, მათ შორის საშუალო, მედიანა, სტანდარტული გადახრა და დიაპაზონი, გამოითვლებოდა თითოეული დიაგნოსტიკური ჯგუფისთვის. ჯგუფებს შორის შედარება ჩატარდა არაპარამეტრული ტესტების გამოყენებით, მათ შორის კრუსკალ-ვალისის ტესტი ჯგუფებს შორის შედარებისთვის და სპირმანის რანგის კორელაცია, რათა შეფასებულიყო კავშირი დაზიანების ხარისხსა და მარკერის ექსპრესიას ან სივრცით განაწილებას შორის. 0.05-ზე ნაკლები p-მნიშვნელობა ჩაითვალა სტატისტიკურად სარწმუნო.

შედეგები

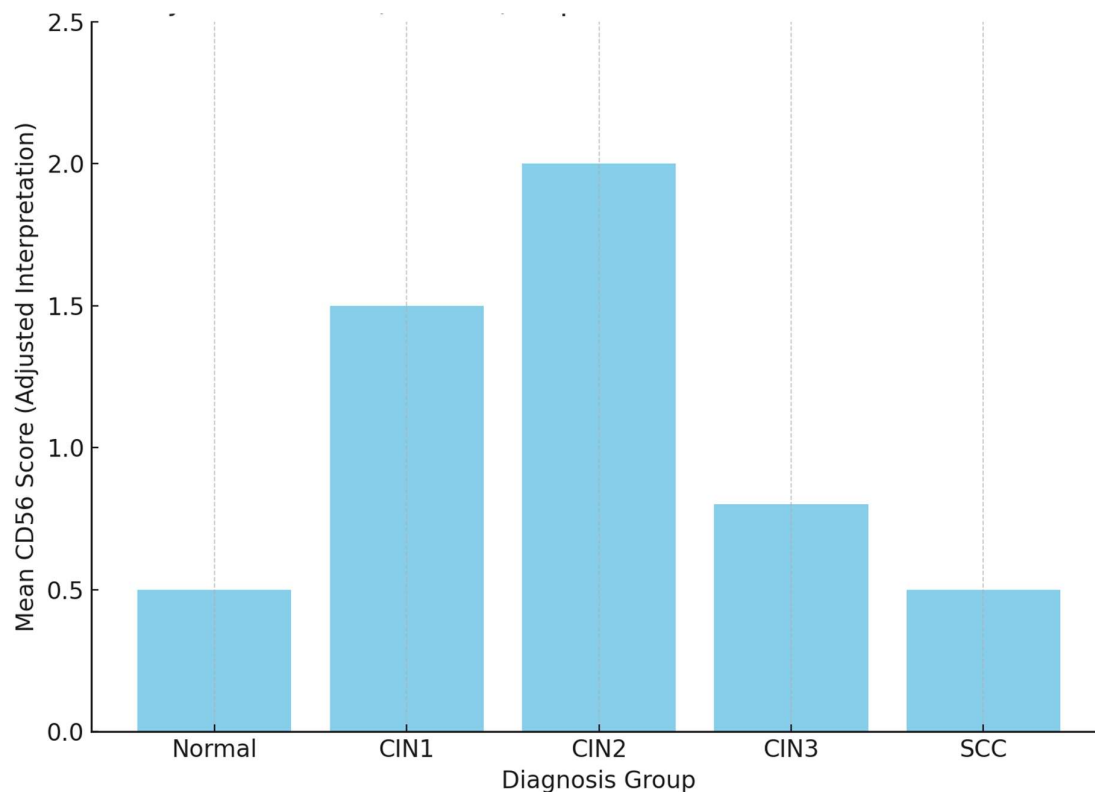
კლინიკოპათოლოგიური მახასიათებლები: კვლევის კოჰორტა მოიცავდა 45 საშვილოსნოს ყელის ქსოვილის ნიმუშს, რომლებიც თანაბრად იყო განაწილებული ხუთ დიაგნოსტიკურ კატეგორიაში: ნორმალური საშვილოსნოს ყელი (n = 9), CIN1 (n = 9), CIN2 (n = 9), CIN3 (n = 9) და ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა (SCC) (n = 9).

დაავადების პროგრესირებასთან ერთად დაფიქსირდა მენსტრუალური სტატუსის მკვეთრი ცვლილება. CIN1 და CIN2-ით ყველა პაციენტი იყო პრემენოპაუზური, მაშინ როცა CIN3 და SCC შემთხვევებმა აჩვენა პოსტმენოპაუზური პაციენტების დომინირება (თითოეულ ჯგუფში 9-დან 6). საშვილოსნოს ყელის ნორმალური შემთხვევების ორი მესამედი იყო პრემენოპაუზური.

HPV სტატუსმა აჩვენა ძლიერი კავშირი დაზიანების ხარისხთან. CIN3 და ინვაზიური SCC-ის უმეტესი შემთხვევა იყო HPV-დადებითი, ხოლო CIN1 და ნორმალური საშვილოსნოს ყელის შემთხვევები მთლიანად HPV-უარყოფითი. CIN2-ში 9 პაციენტიდან მხოლოდ 3 (33%) იყო HPV-დადებითი, რაც შეესაბამება მის გარდამავალ ბიოლოგიურ ბუნებას.

ჰისტოლოგიური მასალის ნიმუშის ტიპები განსხვავდება დაზიანების მიხედვით. ყველა CIN1 და ნორმალური საშვილოსნოს ყელის შემთხვევა დიაგნოზირებული იყო ბიოფსიური მასალის საფუძველზე, ხოლო CIN3 და SCC ნიმუშები უმეტესად მიღებული იყო კონიზაციის პროცედურებიდან. CIN2 ჯგუფი შერეული იყო, ორი მესამედი ბიოფსიიდან და ერთი მესამედი კონიზაციიდან.

PGP9.5, S100 და CD56-ის იმუნოჰისტოქიმიური შეფასება გამოავლინა პროგრესული და მნიშვნელოვანი ცვლილებები ნერვულ არქიტექტურაში და სტრომული ინერვაციაში, რომელიც დაკავშირებულია ჰისტოლოგიურ დაზიანებათა ხარისხის სიმძიმის მატებასთან.

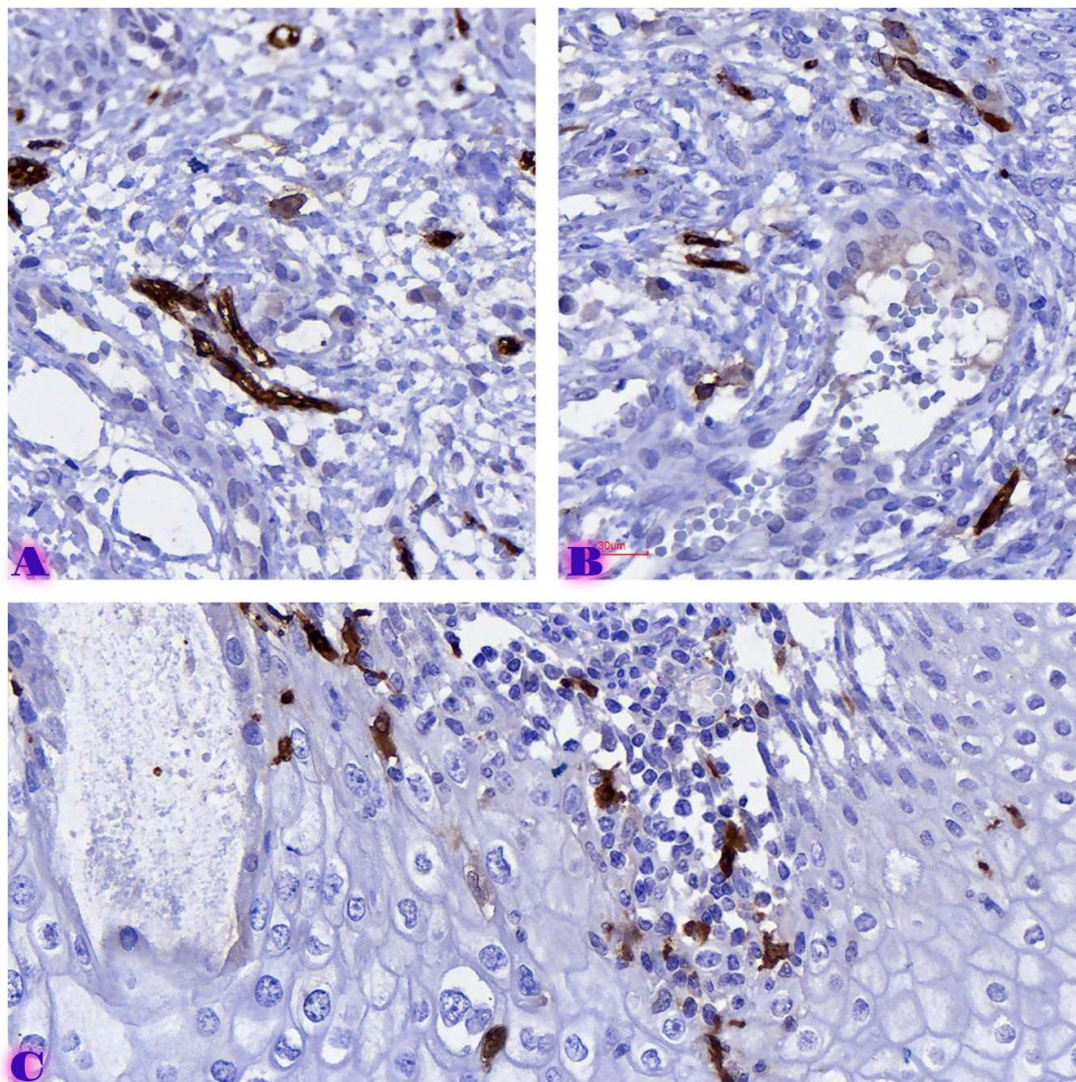


დიაგრამა 6: CD56-ის ექსპრესიის განაწილება საკვლევ ჯგუფებში;

PGP9.5-დადებითი ნერვული ბოჭკოები იშვიათი განაწილებით გვხვდებოდა საშვილოსნოს ყელის ნორმალურ სტრომაში, ნერვების საშუალო რაოდენობას შეადგენდა 0.3/მმ². CIN1-ში ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივე ზომიერად გაიზარდა (საშუალოდ: 1.1/მმ²), ხოლო CIN2-მა აჩვენა შესამჩნევი ზრდა (საშუალოდ: 2.8/მმ²). CIN3-მა აჩვენა შემდგომი ზრდა (საშუალოდ: 5.8/მმ²) და ყველაზე მაღალი ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივე დაფიქსირდა ინვაზიურ SCC-ში (საშუალოდ: 9.3/მმ²), რაც ასახავს მნიშვნელოვან პერინეოპლასტიურ რემოდელირებას.

ამ ტენდენციის პარალელურად, ნერვული ბოჭკოების მაქსიმალური დიამეტრი ასევე მნიშვნელოვნად გაიზარდა დაავადების სიმძიმის მიხედვით. ნორმალური საშვილოსნოს ყელის საშუალო 0,8 μm -დან, დიამეტრი გაიზარდა 3,2 μm -მდე CIN1-ში, 5,1 μm -მდე CIN2-ში, 8,1 μm -მდე CIN3-ში და მიაღწია 11,9 მკმ-ს SCC-ში, რაც მიუთითებს სტრუქტურულად ნერვული ბოჭკოს ჰიპერტროფიაზე და პოტენციურ რეგენერაციულ ან რეაქტიულ ცვლილებებზე სიმსივნის მიკროგარემოში.

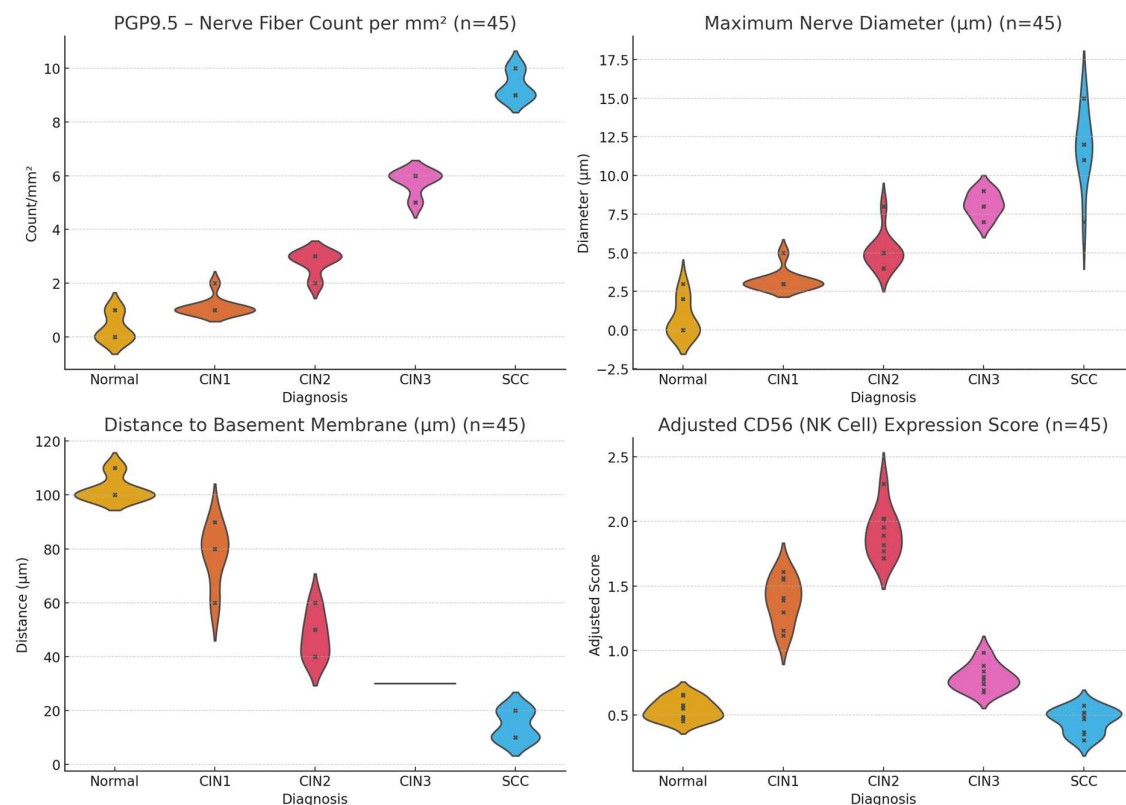
მანძილი ნერვულ ბოჭკოებსა და ეპითელიუმის ბაზალურ მემბრანას შორის პროგრესირებასთან ერთად სტაბილურად მცირდებოდა. ნორმალურ საშვილოსნოს ყელში ნერვები განლაგებული იყო საშუალოდ 102.2 მკმ-ით ეპითელიუმიდან, ხოლო CIN1 და CIN2-ში ეს შემცირდა 77.8 მკმ-მდე და 47.8 მკმ-მდე, შესაბამისად. CIN3-ში ბოჭკოები განლაგებული იყო საშუალოდ 30.0 μm -ზე და ინვაზიურ SCC-ში, ხშირად სიმსივნურ უჯრედებთან ან კონტაქტში (საშუალოდ: 14.4 μm). ეს ხაზს უსვამს შესაძლო ტენდენციას პერიეპითელიური ან პერიტუმორული ნერვული ზრდისკენ.



სურათი 4: A. PGP9.5-ის ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის ზომიერი ხარისხის ინტრაეპითელიურ ნეოპლაზიის შემთხვევაში CIN2, 400X,IHC; B. S100-ის ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის ზომიერი ხარისხის ინტრაეპითელიურ

S100, რომელიც ავლენს შვანის უჯრედებსა და ნერვულ გარსებს, თითქმის არ აღინიშნებოდა ნორმალურ საშვილოსნოს ყელში (საშუალო ქულა: 0.2) და სუსტად დადებითი CIN1-ში (საშუალო ქულა: 1.3). CIN2-ში დაფიქსირდა ნერვული გარსის უფრო მკაფიო სტრუქტურა (საშუალოდ: 2.0), შემდგომი ზრდით CIN3 (2.3) და ინვაზიური SCC (2.9), სადაც პერიტუმორალური S100 პოზიტიურობა აშკარა იყო მრავალ ველში. ეს დასკვნები მიუთითებს პერიფერიული ნერვული ბოჭკოების განვითარებაზე დისპლაზიურ და ავთვისებიან პირობებში.

CD56 (NCAM), თავდაპირველად დისპლაზიის დაბალ ხარისხის შემთხვევებში ჰიპერტროფიასთან ერთად მატულობს NK უჯრედების ჰიპერპლაზია თუმცა CIN3 და SCC შემთხვევებში მისი რაოდენობა მინიმალურია. რაც შესაძლოა წარმოადგენდეს ნეირორეგულაციიდან გაქცევა/სიმსივნის იმუნური სისტემისაგან გაქცევის გამოვლინებას.



დიაგრამა 7: PGP9.5-ის, CD56-ის, ნერვული ბოჭკოების დიამეტრისა და ბაზალური მემბრანიდან დაშორების მონაცემების სხვადასხვა საკვლევ ჯგუფებში.

ნერვული ბოჭკოების რაოდენობის, ნერვული ბოჭკოს დიამეტრის, ეპითელიური ბაზალური მემბრანასთან სიახლოვის და S100/CD56 ექსპრესიის პროგრესირებადი ზრდა CIN1–CIN3 და SCC-ში მხარს უჭერს პერინეოპლასტიური ნერვული რემოდელირების თანდათანობითი, სტრუქტურირებული პროცესის არსებობას. ეს რემოდელირება მინიმალურია ან არ არსებობს საშვილოსნოს ყელის ნორმალურ და დაბალი ხარისხის დაზიანებებში, აშკარა ხდება CIN2-ში და აღწევს მაქსიმალურ მაჩვენებელს CIN3-ში და ინვაზიურ კარცინომაში.

ეს ხაზს უსვამს ნერვული ელემენტების არა მხოლოდ როგორც რეაქტიული სტრომული კომპონენტის, არამედ როგორც ნეოპლასტიკური ტრანსფორმაციის დროს მიკროგარემოს სიგნალიზაციაში ერთერთ მონაწილის შესაძლო როლს.

განსჯა

ჩვენი კვლევა უზრუნველყოფს ნერვული მიკროგარემოს რემოდელირების შეფასებას საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზიის (CIN) და ინვაზიური ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომის (SCC) დაზიანებათა ჰისტოლოგიურ სპექტრში, იმუნოჰისტოქიმიური მარკერების PGP9.5, S100 და CD56 გამოყენებით. ჩვენი კვლევა არის ერთ-ერთი იმ მცირერიცხოვან კვლევათაგანი, რომელიც რაოდენობრივად აფასებს ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივის, მორფოლოგიისა და სივრცული ორიენტაციის ცვლილებებს საშვილოსნოს ყელის სტრომაში და ამ მახასიათებლებს კომპლექსურად განიხილავს დაზიანების ჰისტოლოგიურ ხარისხთან და კლინიკურ პარამეტრებთან, მათ შორის HPV სტატუსთან ერთად.[12]

ჩვენი კვლევის დასკვნები აჩვენებს სტრომული ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივის მკაფიო, პროგრესულ ზრდას CIN1-დან CIN3-მდე ინვაზიურ SCC-მდე. ნერვული ბოჭკოები აღინიშნებოდა მწირი რაოდენობით და ღრმად ლოკალიზებული საშვილოსნოს ყელის ნორმალურ და დაბალი ხარისხის დაზიანებებში, მაგრამ გახდა უფრო მრავალრიცხოვანი და მჭიდროდ მიახლოებული ბაზალურ მემბრანას მაღალი ხარისხის დისპლაზიისა და კარცინომის დროს. ნერვ-ეპითელიუმის საშუალო მანძილის მკვეთრი შემცირება CIN2-სა და CIN3-ს შორის და ნერვული ბოჭკოების დაგროვება დისპლაზიური ეპითელიუმის ქვეშ, მიუთითებს აქტიური პერინეოპლასტიური ინერვაციის დაწყებაზე მაღალი ხარისხის დისპლაზიური ტრანსფორმაციის დროს [13].

მიუხედავად იმისა, რომ ჩვენი კვლევა არ იყო შემუშავებული HPV სტატუსის სტატისტიკურად სტრატეგიკაციისთვის, შესწავლილი ნიმუშების რაოდენობის შეზღუდულობის გამო, კვლევის შედეგები აჩენს მნიშვნელოვან კითხვებს მაღალი რისკის HPV ინფექციის შესაძლო ნეიროტროფიულ გავლენასთან დაკავშირებით. ვირუსულმა ონკოგენებმა, როგორიცაა E6 და E7, შეიძლება წვლილი შეიტანონ არა მხოლოდ ეპითელიუმის ტრანსფორმაციაში, არამედ პარაკრინულ სიგნალიზაციაში სიმსივნის მიკროგარემოში, რაც პოტენციურად იმოქმედებს ნერვული სისტემის გააქტიურებაზე ან შვანის უჯრედების მიგრაციაზე. ეს ჰიპოთეზები საჭიროებს შემდგომ სიღრმისეულ კვლევებს.

ჩვენი კვლევის დასკვნები ასევე აძლიერებს კონცეფციას, რომ საშვილოსნოს ყელის კიბოს პროგრესირება არ შემოიფარგლება ეპითელიუმის დისპლაზიით და იმუნური ზედამხედველობის აცილებით, არამედ მოიცავს კომპლექსურ სტრომულ რემოდელირებას[14]. ნერვული სტრუქტურები, რომლებიც დიდი ხნის განმავლობაში განიხილებოდა პასიურად ან შემთხვევით, შეიძლება შეასრულოს აქტიური როლი მიკროგარემოს შექმნაში. ნერვული ბოჭკოების ჰიპერტროფია პროგრესულად მატულობს დისპლაზიის მატებასთან ერთად. ნაწილი ბოჭკოების არის ჩვეულებრივი ნაწილი კი ნეოანგიოგენეზის შედეგად მიღებული ნეიროგენეზური ბოჭკოები.

CIN3-სა და SCC-ის შემთხვევებში NK (ბუნებრივი მკვლელი უჯრედები) მკვეთრად შემცირებულია, რაც იმით აიხსნება, რომ ამ ეტაპზე დომინირებს ნეონეიროგენეზური ბოჭკოების არსებობა. თავდაპირველად დისპლაზიის დაბალ ხარისხის შემთხვევებში ჰიპერტროფიასთან ერთად მატულობს NK უჯრედების ჰიპერპლაზია თუმცა CIN3 და SCC შემთხვევებში მისი რაოდენობა მინიმალურია. რაც შესაძლოა წარმოადგენდეს ნეირორეგულაციიდან გაქცევის/სიმსივნის იმუნური სისტემისაგან გაქცევის გამოვლინებას.

ეს კვლევა გაძლიერებულია ციფრული პათოლოგიის ხელსაწყოების გამოყენებით ნერვული მახასიათებლების ობიექტური, რეპროდუცირებადი მორფომეტრიული ანალიზის მხარდასაჭერად. სივრცითი და ნახევრად რაოდენობრივი მონაცემების ინტეგრაციამ გააუმჯობესა თანმიმდევრულობა და შეამცირა დამკვირვებლის სუბიექტური შეფასება.

დასკვნა

ჩვენი კვლევა აჩვენებს, რომ საშვილოსნოს ყელის პროგრესირებადი ნეოპლაზიური დაზიანებები, განსაკუთრებით HPV-სთან ასოცირებული CIN3 და ინვაზიური SCC, ხასიათდება სტრომული ნერვული ბოჭკოების სიმკვრივის გაზრდით, ნერვული ბოჭკოების ჰიპერტროფიითა და პერიეპითელური რეორგანიზაციით. PGP9.5, S100-ის ექსპრესია ავლენს ნერვული რემოდელირების სტრუქტურულ პროცესებს, რომელიც შეიძლება ასახავდეს კანცეროგენეზის დროს ადრეულ ნეიროეპითელურ ურთიერთქმედებებს. ნერვული ბოჭკოების ჰიპერტროფია პროგრესულად მატულობს დისპლაზიის მატებასთან ერთად. ნაწილი ბოჭკოების არის ჩვეულებრივი ნაწილი კი ნეოანგიოგენეზის შედეგად მიღებული ნეიროგენეზური ბოჭკოები.

CIN3-სა და SCC-ის შემთხვევებში NK (ბუნებრივი მკვლელი უჯრედები) მკვეთრად შემცირებულია, რაც იმით აიხსნება, რომ ამ ეტაპზე დომინირებს ნეონეიროგენეზური ბოჭკოების არსებობა. თავდაპირველად დისპლაზიის დაბალ ხარისხის შემთხვევებში ჰიპერტროფიასთან ერთად მატულობს NK უჯრედების ჰიპერპლაზია, თუმცა CIN3 და SCC შემთხვევებში მისი რაოდენობა მინიმალურია. რაც შესაძლოა წარმოადგენდეს ნეირორეგულაციიდან გაქცევის/სიმსივნის იმუნური სისტემისაგან გაქცევის გამოვლინებას.

აღნიშნული შედეგები შესაძლოა სამომავლოდ გამოყენებული იქნას იმუნოთერაპიის საშუალებების უკეთ დახვეწასა და NK - ტარგეტული საშუალებების შემუშავებაში.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] მიმოხილვა კრიტიკული, გოგიტიძე გიორგი, კეპულაძე ემოთა, თევზაძე ნინო, and ზურკაძე გიორგი, "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.
- [2] 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.
- [3] W. Wang *et al.*, "Nerves in the Tumor Microenvironment: Origin and Effects," *Front Cell Dev Biol*, vol. 8, Dec. 2020, doi: 10.3389/FCELL.2020.601738.
- [4] 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.
- [5] P. D. Vermeer, "Exosomal induction of tumor innervation," *Cancer Res*, vol. 79, no. 14, pp. 3529–3535, 2019, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3995.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [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] C. Magnon *et al.*, “Autonomic nerve development contributes to prostate cancer progression,” *Science (1979)*, vol. 341, no. 6142, 2013, doi: 10.1126/SCIENCE.1236361.
- [12] T. Dzotsenidze, A. Gvenetadze, M. Gachechiladze, G. Burkadze, and S. Kepuladze, “Immunohistochemical phenotype of fallopian tubes in patients with different grades of serous ovarian carcinoma,” *Indian Journal of Pathology and Oncology Journal homepage: www.ijpo.co.in Original Research Article*, vol. 9, no. 4, pp. 301–305, 2022, doi: 10.18231/j.ijpo.2022.073.
- [13] M. Głowienka-Stodolak *et al.*, “Human Papillomavirus Infections and the Role Played by Cervical and Cervico-Vaginal Microbiota—Evidence from Next-Generation Sequencing Studies,” *Cancers (Basel)*, vol. 16, no. 2, p. 399, Jan. 2024, doi: 10.3390/CANCERS16020399.
- [14] M. Schiffman and N. Wentzensen, “Human papillomavirus infection and the multistage carcinogenesis of cervical cancer,” *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, vol. 22, no. 4, pp. 553–560, Apr. 2013, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-12-1406.

Features of Neural Microenvironment Remodelling in cervical intraepithelial neoplasia and squamous Cell Carcinoma

Giorgi-Jemal Gogitidze¹; Shota Kepuladze²; Giorgi Burkadze³

¹PhD student, Tbilisi State Medical University; Gynaecologist; ²Pathologist, Tbilisi State Medical University; Academic Doctor of Medicine; ³Professor, Head of the Department of Molecular Pathology, Tbilisi State Medical University;

Abstract

Despite the central role of epithelial dysplasia and HPV infection in cervical carcinogenesis, changes in the stromal microenvironment and neural remodelling remain the least studied areas. Our study examines the distribution and structural changes of peripheral nerve fibres across the spectrum of cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. Forty-five cervical tissue samples (9 normal, CIN1, CIN2, CIN3, and SCC) were stained using antibodies to PGP9.5, S100, CD56, and CD34. The density, maximum diameter, and distance from the epithelial basement membrane of nerve fibres were quantified. S100 and CD56 expression were semiquantitatively assessed. A progressive increase in PGP9.5-positive nerve fibres was observed from CIN1 to SCC, which was also accompanied by an increase in nerve fibre diameter. Hypertrophy of nerve fibres progressively increases with increasing dysplasia. Some fibres are normal, while others are neurogenic fibres resulting from neoangiogenesis.

In CIN3 and SCC, NK (natural killer cells) are sharply reduced, which is explained by the presence of neoneurogenic fibres that dominate at this stage. Initially, in cases of low-grade dysplasia, NK cell hyperplasia increases along with hypertrophy, although its number is minimal in CIN3 and SCC. This may represent a manifestation of escape from neuroregulation/tumour escape from the immune system.

These results may be used to refine immunotherapy better and develop NK-targeted drugs.

Keywords: Cervical intraepithelial neoplasia, PGP9.5, S100, CD56, neural remodelling, HPV, cervical cancer, tumour microenvironment.