

ძუძუს ეპითელური სიმსივნეებისა და სიმსივნისწინარე მდგომარეობების პროლიფერაციულ-აპოპტოზურ აქტივობას, სიმსივნის „ზადებსა“ და სიმსივნის მაინფილტრირებელ ლიმფოციტებს შორის კორელაციური კავშირები: რეტროსპექტული იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა

ქეთევან შენგელაია¹; ირაკლი კობხრიძე²; გიორგი ბურკაძე³; შოთა კეპულაძე⁴;

¹თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი; ექიმი; გინეკოლოგი; ²თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ონკოლოგიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი;

³თსსუ მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი; პროფესორი; ექიმი,

პათოლოგანატომი; ⁴თსსუ მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი; ექიმი, პათოლოგანატომი;

აბსტრაქტი

ძუძუს კიბო ავლენს მნიშვნელოვან ბიოლოგიურ ჰეტეროგენულობას, რომელიც ხასიათდება პროლიფერაციული აქტივობის, აპოპტოზური რეგულირების, ინვაზიური პოტენციალისა და იმუნური მიკროგარემოს თავისებურებების მკვეთრი განსხვავებებით. სულ უფრო მეტი მტკიცებულება მიუთითებს, რომ ამ ფაქტორებს შორის ურთიერთქმედება მნიშვნელოვნად უწყობს ხელს სიმსივნის პროგრესირებას და კლინიკურ ჰეტეროგენულ ქცევას. ამ კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ძუძუს ეპითელურ სიმსივნეებსა და სიმსივნის წინარე მდგომარეობებში პროლიფერაციულ აქტივობას, აპოპტოზურ მარკერების ექსპრესიას, სიმსივნის „ზადებსა“ და სიმსივნის მაინფილტრირებელ ლიმფოციტებს (TIL) შორის ურთიერთკავშირის გამოკვლევა.

ეს რეტროსპექტული კვლევა მოიცავდა კეთილთვისებიან, პრეინვაზიურ და ინვაზიურ ძუძუს ეპითელურ დაზიანებებს, რომლებიც დიაგნოსტირებული იყო 2018 და 2025 წლებში. ჰისტოპათოლოგიური შეფასება ჩატარდა ჰემატოქსილინით და ეოზინით შეღებილი ანათლების გამოყენებით. იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი მოიცავდა Ki67-ს, როგორც პროლიფერაციულ მარკერს და BCL2-ს, როგორც ანტი-აპოპტოზურ მარკერს. სიმსივნის „ზადები“ შეფასდა ინვაზიურ ფრონტზე, ხოლო სტრომული TIL-ები შეფასდა დადგენილი საერთაშორისო რეკომენდაციების შესაბამისად. სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა არაპარამეტრული შედარებითი და კორელაციის მეთოდების გამოყენებით.

კვლევაში ჩართული იყო სულ 54 შემთხვევა, მათ შორის კეთილთვისებიანი/ჰიპერპლაზიური დაზიანებები, პრეინვაზიური დაზიანებები და ინვაზიური სარძევე ჯირკვლის კარცინომა. Ki67 ექსპრესიამ აჩვენა პროგრესული ზრდა ნეოპლაზიურ სპექტრში, ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული აქტივობით დაფიქსირდა ინვაზიურ კარცინომებში და განსაკუთრებით სამმაგად უარყოფით სიმსივნეებში ($p < 0.001$). სიმსივნის „ბადების“ აქტივობამ აჩვენა ძლიერი დადებითი კორელაცია Ki67 ექსპრესიასთან ($\rho = 0.949$, $p < 0.001$), რაც მიუთითებს პროლიფერაციულ აქტივაციასა და ინვაზიურ რემოდელირებას შორის მჭიდრო კავშირზე. სტრომული TIL სიმკვრივემ აჩვენა ინვერსიული კორელაცია როგორც Ki67 ექსპრესიასთან, ასევე სიმსივნის „ბადების“ აქტივობასთან, რაც მიუთითებს ადგილობრივი იმუნური პასუხის შედარებით დათრგუნვაზე მაღალ აგრესიულ სიმსივნეებში. BCL2 ექსპრესია მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა დაზიანების ჯგუფებს შორის ($p < 0.001$), თუმცა მისი კავშირი რეციდივთან არ იყო სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი.

ძუძუს კიბოს პროგრესირება დაკავშირებულია პროლიფერაციული სიგნალის გადაცემის, აპოპტოზური რეგულირების, ინვაზიური მორფოლოგიური რემოდელირებისა და სტრომული იმუნური პასუხის კოორდინირებულ ცვლილებებთან. Ki67-ის მაღალი ექსპრესია და სიმსივნის ზრდა, როგორც ჩანს, აგრესიული სიმსივნის ქცევის ურთიერთდაკავშირებულ ინდიკატორებს წარმოადგენს, ხოლო სტრომული TIL-ის სიმკვრივის შემცირება შეიძლება სიმსივნის ევოლუციის დროს პროგრესულ იმუნურ გაქცევას ასახავდეს. პროლიფერაციული, აპოპტოზური და მიკროგარემოს პარამეტრების ინტეგრირებული შეფასება შეიძლება ღირებულ დამატებით ინფორმაციას იძლეოდეს ძუძუს კარცინომის ბიოლოგიური სტრატეგიკაციისთვის.

საკვანძო სიტყვები: ძუძუს კიბო; Ki67; BCL2; სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტები; პროლიფერაციული აქტივობა; აპოპტოზი; იმუნოჰისტოქიმია; სიმსივნის მიკროგარემო;

შესავალი

ძუძუს კიბო მსოფლიოში ქალთა პოპულაციაში ერთ-ერთ ყველაზე გავრცელებულ ავთვისებიან სიმსივნედ რჩება და მისი მაღალი შემთხვევების რაოდენობის, ბიოლოგიური ჰეტეროგენულობისა და ცვალებადი კლინიკური ქცევის გამო, კვლავ წარმოადგენს მნიშვნელოვან გლობალურ ჯანმრთელობის ტვირთს.[1,2] მოლეკულური კლასიფიკაციისა და მიზნობრივი თერაპიის მნიშვნელოვანი პროგრესის მიუხედავად, სარძევე ჯირკვლის კიბოს პროგრესირება და რეციდივი მნიშვნელოვან კლინიკურ გამოწვევებად რჩება, განსაკუთრებით აგრესიული მოლეკულური ქვეტიპების შემთხვევაში, რომლებიც ხასიათდება გაზრდილი პროლიფერაციული აქტივობითა და ინვაზიური პოტენციალით. [3] თანამედროვე ონკოპათოლოგია სულ უფრო მეტად

აღიარებს, რომ სიმსივნის პროგრესირება არ განისაზღვრება მხოლოდ ჰისტოლოგიური ქვეტიპით ან სტადიით, არამედ პროლიფერაციული სიგნალის გადაცემით, აპოპტოზური რეგულირების, სტრომის რემოდელირებისა და ადგილობრივი იმუნური მიკროგარემოს შორის რთული ურთიერთქმედებით.

სარძევე ჯირკვლის პათოლოგიაში გამოყენებულ მრავალრიცხოვან ბიომარკერებს შორის, Ki67 გახდა პროლიფერაციული აქტივობის ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ შესწავლილი ინდიკატორი. Ki67 არის ბირთვული ცილა, რომელიც ექსპრესირდება უჯრედული ციკლის აქტიური ფაზების დროს და ითვლება სიმსივნის ზრდის ფრაქციის შეფასების მნიშვნელოვან სუროგატ მარკერად. Ki67-ის გაზრდილი ექსპრესია ასოცირდება უფრო მაღალ ჰისტოლოგიურ ხარისხთან, აგრესიულ მოლეკულურ ქვეტიპთან, არახელსაყრელ პროგნოზთან და სარძევე ჯირკვლის კარცინომის დროს დაავადებისგან თავისუფალი გადარჩენის შემცირებასთან. კლინიკურ პრაქტიკაში, Ki67 ხშირად შედის მოლეკულური ქვეტიპის კლასიფიკაციაში, განსაკუთრებით Luminal A და Luminal B კარცინომების განსახვავებლად. თუმცა, მისი ფართო გამოყენების მიუხედავად, Ki67 ექსპრესიის ბიოლოგიური მნიშვნელობა ბოლომდე არ არის გაგებული.[4,5]

აპოპტოზური რეგულირება წარმოადგენს სიმსივნის ბიოლოგიის კიდევ ერთ ფუნდამენტურ კომპონენტს. BCL2 არის ანტი-აპოპტოზური ცილა, რომელიც აფერხებს დაპროგრამებულ უჯრედების სიკვდილს და ხელს უწყობს უჯრედების გახანგრძლივებულ გადარჩენას. ბევრ ავთვისებიან სიმსივნეში, BCL2-ის ექსპრესიის გაზრდა ასოცირდება სიმსივნის მდგრადობასთან და თერაპიულ რეზისტენტობასთან. საინტერესოა, რომ სარძევე ჯირკვლის კარცინომაში, BCL2 ექსპრესია ავლენს პარადოქსულ ბიოლოგიურ ქცევას სხვა სიმსივნის ტიპებთან შედარებით. [6]რამდენიმე კვლევამ აჩვენა, რომ BCL2 დადებითობა უფრო ხშირად ასოცირდება ჰორმონ-რეცეპტორ-დადებით და დაბალი ხარისხის სარძევე ჯირკვლის კარცინომებთან და შეიძლება კორელაციაში იყოს უფრო ხელსაყრელ კლინიკურ შედეგებთან. ეს დასკვნები მიუთითებს, რომ BCL2-ის ბიოლოგიურ როლზე სარძევე ჯირკვლის კიბოში შეიძლება ძლიერ გავლენას ახდენდეს ჰორმონალური სიგნალის გადაცემის გზები და მოლეკულური ქვეტიპის სპეციფიკური მექანიზმები. შესაბამისად, პროლიფერაციული და აპოპტოზური მარკერების ერთად შეფასებამ შეიძლება უფრო ყოვლისმომცველი ინფორმაცია მოგვაწოდოს სიმსივნის ქცევის შესახებ, ვიდრე მხოლოდ იზოლირებული მარკერების ანალიზმა.[7,8]

ბოლო წლებში სულ უფრო მეტი ყურადღება ექცევა სიმსივნის ინვაზიურობის მორფოლოგიურ ინდიკატორებს, განსაკუთრებით სიმსივნის კვირტებს ე.წ „სიმსივნურ ბადებს“. სიმსივნის „ბადები“ გულისხმობს იზოლირებული ცალკეული სიმსივნური უჯრედების ან მცირე უჯრედული კლასტერების არსებობას კარცინომების ინვაზიურ ფრონტზე და ამჟამად განიხილება, როგორც გაძლიერებული მიგრაციული და

ინვაზიური უნარის ჰისტოლოგიური გამოვლინება. მიუხედავად იმისა, რომ სიმსივნის „ბადები“ ფართოდ არის შესწავლილი მსხვილი ნაწლავის კარცინომაში და ჩართულია პროგნოზული შეფასების სისტემებში, მისი მნიშვნელობა სარძევე ჯირკვლის კარცინომაში ნაკლებად მკაფიოდ არის დადგენილი. ახალი მტკიცებულებები მიუთითებს, რომ სარძევე ჯირკვლის კარცინომაში სიმსივნის „ბადების“ გაზრდა დაკავშირებულია აგრესიულ კლინიკურ-პათოლოგიურ მახასიათებლებთან, ლიმფოვასკულურ ინვაზიასთან, ლიმფური კვანძების მეტასტაზებთან და შემცირებულ გადარჩენის მაჩვენებელთან. ბიოლოგიური პერსპექტივიდან გამომდინარე, სიმსივნის „ბადები“, სავარაუდოდ, ასახავს ნაწილობრივ ეპითელურ-მეზენქიმურ გადასვლას (EMT), რომლის დროსაც სიმსივნური უჯრედები კარგავენ ეპითელურ ადჰეზიურ თვისებებს და იძენენ გაძლიერებულ ინვაზიურ შესაძლებლობებს. პროლიფერაციულ აქტივობასა და სიმსივნის „ბადებს“ შორის ურთიერთობა განსაკუთრებით საინტერესო რჩება, რადგან მაღალპროლიფერაციულ სიმსივნეებმა შეიძლება ერთდროულად აჩვენონ გაზრდილი ინვაზიური და მეტასტაზური პოტენციალი.[9]

სიმსივნის მიკროგარემო ასევე წარმოიშვა, როგორც სარძევე ჯირკვლის კიბოს პროგრესირების კრიტიკული განმსაზღვრელი ფაქტორი. სტრომული სიმსივნეში ინფილტრირებული ლიმფოციტები (TIL) წარმოადგენენ მასპინძლის იმუნურ პასუხს სიმსივნური უჯრედების წინააღმდეგ და სულ უფრო მნიშვნელოვანი ხდება თანამედროვე სარძევე ჯირკვლის კიბოს კვლევაში. TIL-ების პროგნოზული მნიშვნელობა განსაკუთრებით აღიარებულია სამმაგად უარყოფით და HER2-დადებით სარძევე ჯირკვლის კარცინომებში, სადაც ლიმფოციტური ინფილტრაციის გაზრდა შეიძლება კორელაციაში იყოს გაუმჯობესებულ თერაპიულ პასუხთან და გადარჩენასთან. თუმცა, TIL სიმკვრივეს, პროლიფერაციულ აქტივობასა და ინვაზიურ მორფოლოგიურ ცვლილებებს შორის ურთიერთქმედება ბოლომდე შესწავლილი არ არის.[10,11] მაღალი პროლიფერაციული ინდექსებით და ძლიერი ინვაზიური რემოდელირებით ხასიათდება სიმსივნეები, რომლებიც ხასიათდებიან იმუნური გაქცევის მექანიზმებით, რაც იწვევს არაეფექტურ ანტისიმსივნურ იმუნურ მეთვალყურეობას და უფრო აგრესიული ბიოლოგიური ფენოტიპებისკენ პროგრესირებას.

სარძევე ჯირკვლის კარცინომას ასევე ახასიათებს მნიშვნელოვანი მოლეკულური ჰეტეროგენულობა. ლუმინალური სიმსივნეები ზოგადად ავლენენ ჰორმონის რეცეპტორების დადებითობას და დაბალ პროლიფერაციულ აქტივობას, მაშინ როდესაც HER2-დადებითი და სამმაგად უარყოფითი კარცინომები ხშირად ავლენენ უფრო აგრესიულ ბიოლოგიურ ქცევას. იმის გაგება, თუ როგორ ურთიერთქმედებენ პროლიფერაციული მარკერები, აპოპტოზური გზები, სიმსივნის „ბადები“ და სტრომული იმუნური პასუხები სხვადასხვა მოლეკულურ ქვეტიპებს შორის, შეიძლება

ხელს უწყობდეს ბიოლოგიური სტრატეგიკაციისა და პროგნოზული შეფასების გაუმჯობესებას.

მიუხედავად იმისა, რომ მრავალრიცხოვანმა კვლევამ დამოუკიდებლად შეისწავლა Ki67, BCL2, სიმსივნის „ბადები“ ან TIL-ები სარძევე ჯირკვლის კარცინომაში, შედარებით ცოტა კვლევამ შეაფასა ეს პარამეტრები ერთდროულად ერთსა და იმავე კოჰორტაში. პროლიფერაციული აქტივობის, აპოპტოზური სიგნალის გადაცემის, ინვაზიური მორფოლოგიური რემოდელირებისა და იმუნური მიკროგარემოს პასუხის ინტეგრირებული შეფასება შეიძლება უფრო ყოვლისმომცველ წარმოდგენას გვიქმნიდეს სარძევე ჯირკვლის კიბოს პროგრესირების საფუძვლად მყოფ ბიოლოგიურ მექანიზმებზე. ასეთი კომბინირებული შეფასება ასევე შეიძლება დაეხმაროს სიმსივნის აგრესიულობასა და რეციდივში მონაწილე გზების იდენტიფიცირებაში.

კვლევის მასალა და მეთოდები

კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტულ-დაკვირვებით კოჰორტულ კვლევას, რომელიც ჩატარდა ფორმალინით ფიქსირებულ, პარაფინში ჩაყალიბებულ (FFPE) ქსოვილის ნიმუშების გამოყენებით, რომლებიც მიღებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიის დეპარტამენტის საარქივო არაფერსონიფიცირებული მასალებიდან. კვლევა მოიცავდა 2018-2025 წლებში დიაგნოსტირებულ ძუძუს ეპითელიური დაზიანებებს. ჰისტოპათოლოგიური ნიმუშები შედგებოდა ბიოფსიის, ლამფექტომიის (ძუძუს შემანარჩუნებელი ოპერაცია) და მასტექტომიის შედეგად მიღებული მასალებისგან. კვლევიდან გამოირიცხა ქსოვილის არასაკმარისი შენარჩუნების, ფართო ნეკროზის, მძიმე ფიქსაციის არტეფაქტების ან არასრული კლინიკურ-პათოლოგიური ინფორმაციის შემთხვევები.

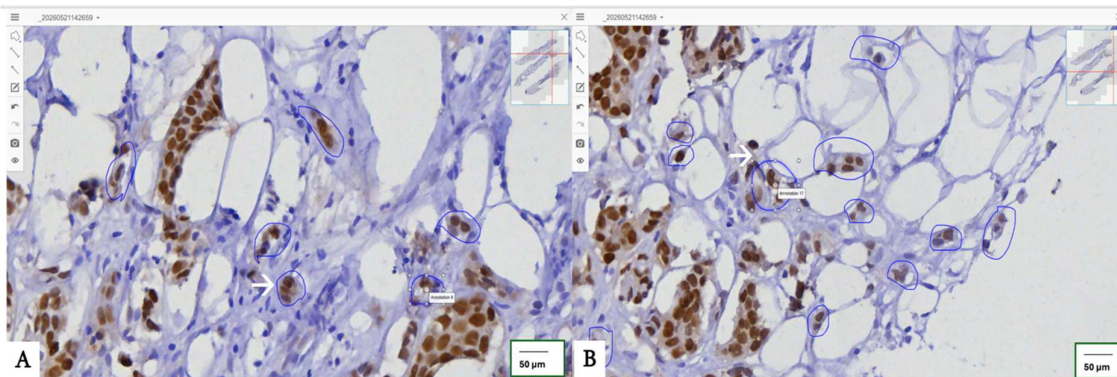
კვლევის კოჰორტაში შედიოდა სარძევე ჯირკვლის კეთილთვისებიანი და ჰიპერპლაზიური დაზიანებები, პრეინვაზიური ეპითელიური დაზიანებები და ინვაზიური სარძევე ჯირკვლის კარცინომა. ჰისტოლოგიური დიაგნოზები ვერიფიცირებული იქნა ჯანმო-ს თანამედროვე კლასიფიკაციის კრიტერიუმების შესაბამისად. ინვაზიური კარცინომა დამატებით დაჯგუფდა მოლეკულური ქვეტიპის მიხედვით ლუმინალურ A, ლუმინალურ B, HER2-დადებით და სამმაგად უარყოფით სარძევე ჯირკვლის კარცინომის (TNBC) ჯგუფებად იმუნოჰისტოქიმიურად ჰორმონული რეცეპტორისა და HER2 პროფილების საფუძველზე.

კლინიკური ინფორმაცია შეგროვდა პათანატომიური მომართვის დოკუმენტაციებიდან და ინსტიტუციური მონაცემთა ბაზებიდან. კვლევის ალგორითმში შემავალი გაანალიზებული ცვლადები მოიცავდა პაციენტის ასაკს, ჰისტოლოგიურ დიაგნოზს,

სიმსივნის ხარისხს, სიმსივნის ზომას, pT სტადიას, pN სტადიას, რეციდივის სტატუსს, დაკვირვების ხანგრძლივობას და მოლეკულური ქვეტიპის კლასიფიკაციას.

ყველა შემთხვევის ჰემატოქსილინით და ეოზინით (H&E) შეღებილი სლაიდები დამოუკიდებლად განხილულ იქნა ჰისტომორფოლოგიური შეფასებისთვის. სიმსივნის ინფილტრაციული ლიმფოციტები (TIL) შეფასდა ინვაზიური სიმსივნის უბნების მიმდებარე სტრომულ კომპარტმენტებში, საერთაშორისო TIL-ების სამუშაო ჯგუფის რეკომენდაციების შესაბამისად. სტრომული TIL-ის პროცენტული მაჩვენებელი შეფასდა, როგორც მონონუკლეარული ანთებითი უჯრედების მიერ ინვაზიური სიმსივნის საზღვარზე დაკავებული სტრომული ფართობის პროპორცია.

სიმსივნის „ბადების“ შეფასება ჩატარდა ინვაზიური კარცინომის შემთხვევებში H&E-შეღებილი ანათლების გამოყენებით. სიმსივნური „ბადები“ განისაზღვრა, როგორც იზოლირებული ერთჯერადი სიმსივნური უჯრედები ან კლასტერები, რომლებიც შედგებოდა ხუთამდე სიმსივნური უჯრედისგან, რომლებიც განლაგებული იყო ინვაზიურ ფრონტზე. „ბადების“ კერები იდენტიფიცირებული იქნა დაბალი გადიდებით, რასაც მოჰყვა რაოდენობრივი შეფასება მაღალი სიმძლავრის ველებში (HPF). შემთხვევები შემდგომში კატეგორიზებული იქნა „ბადების“ ინტენსივობის მიხედვით.



სურათი 7. A. სურათზე ნაჩვენებია სიმსივნური „ბადები“ მარკირებულია ლურჯად, აღნიშნულია ერთ-ერთი კლასტერი ისრით, შეფასებულია პროლიფერაციული აქტივობა სიმსივნის ბადებში იმუნოჰისტოქიმიური ტექნოლოგიით Ki67 ანტისხეულის გამოყენებით 400X, სიმსივნის ბადების მაჩვენებელი ზომიერია 6 სიმსივნური „ბადი“; საკვლევი ჯგუფი დაბალდიფერენცირებული ინვაზიური სადინროვანი კარცინომა Luminal B; B. ნაჩვენებია სიმსივნური „ბადები“ მარკირებულია ლურჯად, აღნიშნულია ერთ-ერთი კლასტერი ისრით, შეფასებულია პროლიფერაციული აქტივობა სიმსივნის ბადებში იმუნოჰისტოქიმიური ტექნოლოგიით Ki67 ანტისხეულის გამოყენებით 400X, სიმსივნის ბადების მაჩვენებელი მაღალია >10 სიმსივნური „ბადი“, საკვლევი ჯგუფი დაბალდიფერენცირებული ინვაზიური სადინროვანი კარცინომა Luminal B;

იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი ჩატარდა დადებითად დამუხტულ სლაიდებზე დაფიქსირებულ FFPE ქსოვილის ანათლების გამოყენებით. ოთხმიკრომიმეტრიანი

ანათლები დეპარაფინიზებული, რეჰიდრატირებული და თერმულად ინდუცირებული ეპიტოპის აღდგენის შემდეგ იქნა გამოყენებული. იმუნოჰისტოქიმიური შედეგა ჩატარდა ხელმისაწვდომი პირველადი ანტისხეულების გამოყენებით, მწარმოებლის მიერ რეკომენდებული პროტოკოლების შესაბამისად. ანტისხეულები მოიცავდა Ki67-ს, როგორც პროლიფერაციულ მარკერს და BCL2-ს, როგორც ანტიაპოპტოზურ მარკერს. მოლეკულური ქვეტიპის კლასიფიკაციისთვის, სადაც ეს შესაძლებელი იყო, დამატებით გამოყენებული იყო ესტროგენის რეცეპტორი (ER), პროგესტერონის რეცეპტორი (PR) და HER2 იმუნოჰისტოქიმიის.

Ki67 პროლიფერაციული აქტივობა შეფასდა, როგორც დადებითად შეღებილი სიმსივნური ბირთვების პროცენტული მაჩვენებელი ცხელ წერტილებში, რომლებიც აჩვენებდნენ მაქსიმალურ პროლიფერაციულ აქტივობას. მინიმუმ 500 სიმსივნური უჯრედი შეფასდა წარმომადგენლობით მაღალი გადიდების ველებში. Ki67 ექსპრესია დაფიქსირდა, როგორც უწყვეტი პროცენტული ცვლადი.

BCL2 ექსპრესია შეფასდა ნახევრად რაოდენობრივად შეღებვის ინტენსივობის და დადებითი სიმსივნური უჯრედების პროცენტული მაჩვენებლის მიხედვით. ციტოპლაზმური შეღებვის ინტენსივობა შეფასდა, როგორც სუსტი, საშუალო ან ძლიერი და შემდგომში H-ქულა გამოითვალა ინტენსივობისა და განაწილების კომბინირებული პარამეტრების გამოყენებით.

P53 იმუნოჰისტოქიმიური ნიმუშები, ხელმისაწვდომობის შემთხვევაში, კატეგორიზებული იყო როგორც ველური/ზუნებრივი ტიპის, ზედმეტად გამოხატული/ჰიპერექსპრესიული ან ნულოვანი ტიპის შეღებვის ნიმუშები.

ციფრული სლაიდის მიმოხილვა და მორფოლოგიური ვერიფიკაცია ჩატარდა მთლიანი სლაიდის ვიზუალიზაციის სისტემების (WSI) გამოყენებით. რაოდენობრივი და ნახევრად რაოდენობრივი ანალიზები დამოუკიდებლად იქნა განხილული დაკვირვებითი მიკროსკოპების მინიმიზაციის მიზნით.

სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS სტატისტიკური პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით. უწყვეტი ცვლადები გამოიხატა საშუალო \pm სტანდარტული გადახრით ან მედიანას მნიშვნელობებით. კვლევის ჯგუფებს შორის შედარება ჩატარდა კრუსკალ-ვალის და მან-უიტნის U ტესტების გამოყენებით არაპარამეტრული ცვლადებისთვის. პროლიფერაციულ აქტივობას, სიმსივნის „ზადება“, TIL სიმკვრივეს და აპოპტოზური მარკერის ექსპრესიას შორის კორელაციები შეფასდა სპერმანის კორელაციის ანალიზის გამოყენებით. p -მნიშვნელობა < 0.05 ითვლებოდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად.

კვლევა ჩატარდა ჰელსინკის დეკლარაციის პრინციპების შესაბამისად და დამტკიცებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის

ინსტიტუციური ეთიკის კომიტეტის მიერ. პაციენტის ყველა ინფორმაცია ანონიმიზებული და არაპერსონიფიცირებული იყო.

კვლევის შედეგები

კვლევის კოჰორტაში შედიოდა 54 ძუძუს დაზიანება: 12 კეთილთვისებიანი/ჰიპერპლაზიური დაზიანება, 12 პრეინვაზიური დაზიანება და 30 ინვაზიური სარძევე ჯირკვლის კარცინომა. ინვაზიური კარცინომის ჯგუფი წარმოადგენდა კვლევის პოპულაციის უდიდეს ნაწილს და ავლენდა ყველაზე ფართო მორფოლოგიურ და იმუნოფენოტიპურ ჰეტეროგენულობას.

პაციენტის საშუალო ასაკი იყო 49.3 წელი (დიაპაზონი: 38–65 წელი). ინვაზიური კარცინომის მქონე პაციენტები ზოგადად უფრო მაღალი ასაკობრივი კატეგორიის იყვნენ კეთილთვისებიანი და პრეინვაზიური დაზიანებების მქონე პაციენტებთან შედარებით. საშუალო ასაკი იყო 42.5 წელი კეთილთვისებიანი/ჰიპერპლაზიური დაზიანებების შემთხვევაში, 43.0 წელი პრეინვაზიური დაზიანებების შემთხვევაში და 54.6 წელი ინვაზიური კარცინომის შემთხვევაში, რაც მიუთითებს ნეოპლაზიური სპექტრის ასაკობრივ პროგრესულ მატებაზე.

პარამეტრი	კეთილთვისებიანი/ჰიპერპლაზიური	პრეინვაზიური	ინვაზიური კარცინომა
შემთხვევების რაოდენობა	12	12	30
საშუალო ასაკი	42.5	43.0	54.6
Ki67 საშუალო (%)	3.5	14.0	67.0
BCL2 საშუალო H-score	0	30.0	56.0
TIL საშუალო (%)	—	12.0	21.0
Tumor Budding საშუალო	—	—	7.0

ცხრილი 12. კვლევის ჯგუფების კლინიკურ-პათოლოგიური მახასიათებლები;

პროლიფერაციული აქტივობის ანალიზმა აჩვენა Ki67 ექსპრესიის მნიშვნელოვანი ეტაპობრივი ზრდა კეთილთვისებიანი დაზიანებებიდან ინვაზიურ კარცინომაში პროგრესირების დროს. კეთილთვისებიანი/ჰიპერპლაზიური დაზიანებები ავლენდა მინიმალურ პროლიფერაციულ აქტივობას, Ki67-ის საშუალო ინდექსით 3.5%. პრეინვაზიურმა დაზიანებებმა აჩვენა შუალედური პროლიფერაცია, საშუალო Ki67 ინდექსით 14.0%, მაშინ როდესაც ინვაზიურმა კარცინომებმა აჩვენა მნიშვნელოვნად მომატებული პროლიფერაციული აქტივობა, საშუალო Ki67 ინდექსით 67.0%. სტატისტიკურმა ანალიზმა დაადასტურა კვლევის ჯგუფებს შორის მნიშვნელოვანი განსხვავება (კრუსკალ-ვალის $H = 43.647$, $p < 0.001$). ეს მონაცემები მიუთითებს

პროგრესულ პროლიფერაციულ აქტივაციაზე სარძევე ჯირკვლის სიმსივნის პროგრესირების დროს.

მოლეკულური ქვეტიპი	Ki67 საშუალო (%)
Luminal A	55.0
Luminal B	60.0
HER2-დადებითი	70.0
Triple-negative	80.0

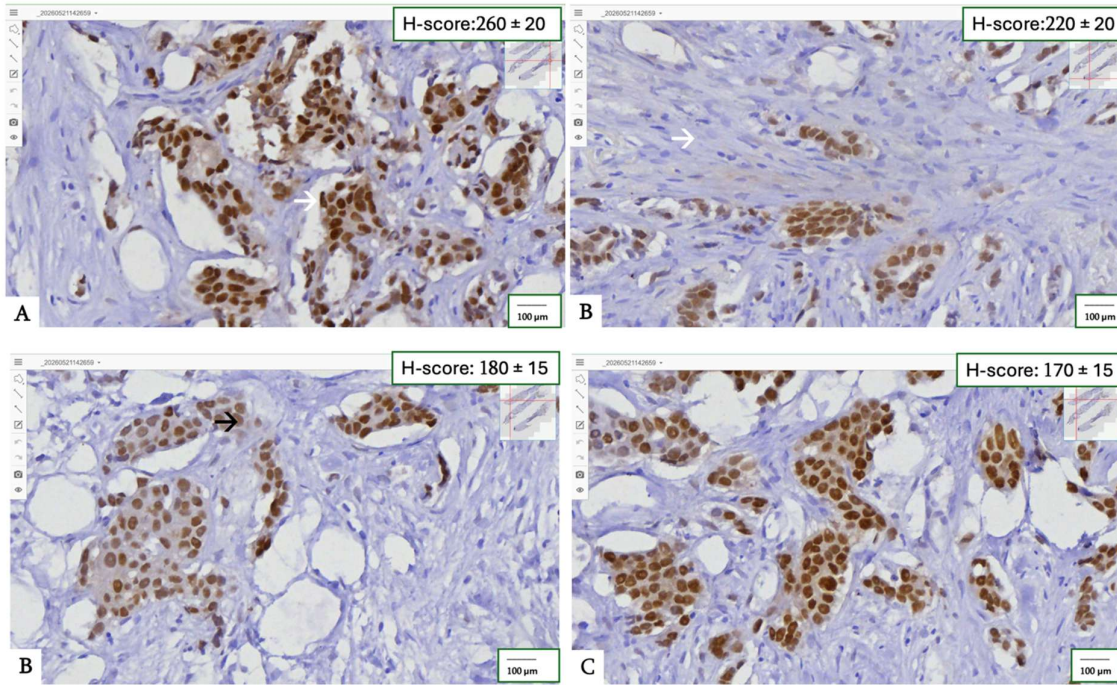
ცხრილი 13. Ki67 ექსპრესიის შედარება მოლეკულურ ქვეტიპებში;

BCL2 ექსპრესიამ ასევე აჩვენა მნიშვნელოვანი საკვლევ ჯგუფთაშორისი ვარიაცია. კეთილთვისებიანმა დაზიანებებმა აჩვენა BCL2 ექსპრესია ან არარსებობა ან მინიმალური, ხოლო პრეინვაზიურმა დაზიანებებმა აჩვენა ზომიერი დადებითობა. ინვაზიურმა კარცინომებმა აჩვენეს ყველაზე მაღალი საშუალო BCL2 H-ქულა (56.0), თუმცა დაფიქსირდა მნიშვნელოვანი შიდაჯგუფური ჰეტეროგენულობა. ინვაზიურ სიმსივნეებში BCL2 ექსპრესიის დიაპაზონი მერყეობდა ფოკალური სუსტი დადებითობიდან დიფუზურ ძლიერ ექსპრესიამდე. ჯგუფთაშორისი საერთო განსხვავებები სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი იყო ($H = 25.860$, $p < 0.001$). რამდენიმე ინვაზიურ კარცინომაში BCL2 ექსპრესიის ზრდის მიუხედავად, ექსპრესიის ნიმუშები მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა მოლეკულური ქვეტიპისა და პროლიფერაციული სტატუსის მიხედვით.

პარამეტრები	Spearman rho	p მნიშვნელობა
Ki67 და Tumor Budding	0.949	<0.001
Ki67 და TIL	-0.353	0.035
TIL და Tumor Budding	-0.949	<0.001

ცხრილი 14. კორელაციური ანალიზი ძირითად პარამეტრებს შორის;

ქვეტიპზე ორიენტირებულმა ანალიზმა გამოავლინა მნიშვნელოვანი განსხვავებები პროლიფერაციული აქტივობის მხრივ ინვაზიურ კარცინომებს შორის. ლუმინალური A კარცინომებმა ავთვისებიან სიმსივნეებს შორის ყველაზე დაბალი Ki67 ინდექსი აჩვენეს, საშუალო პროლიფერაციული აქტივობით დაახლოებით 55.0%. ლუმინალური B სანათურის კარცინომებმა ზომიერად გაზარდეს Ki67 ექსპრესია (საშუალოდ 60.0%), ხოლო HER2-დადებითმა კარცინომებმა პროლიფერაციული აქტივობის შემდგომი მატება აჩვენეს. სამმაგად უარყოფითმა სარძევე ჯირკვლის კარცინომებმა ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული ინდექსები აჩვენეს, საშუალო Ki67 მნიშვნელობით, რომელიც 80.0%-ს უახლოვდებოდა. ეს განსხვავებები სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი იყო ($H = 29.000$, $p < 0.001$), რაც ადასტურებდა მოლეკულურ ქვეტიპსა და ბიოლოგიურ აგრესიულობას შორის კავშირს.



სურათი 8. Ki67 იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის თავისებურებები ძუძუს კარცინომის სხვადასხვა მოლეკულურ ქვეტიპებში. (A) Luminal B ტიპის ინვაზიური კარცინომა, ზომიერად მაღალი პროლიფერაციული აქტივობით (Grade 2), Ki67 მაღალი ბირთვული ექსპრესია; (B) HER2-დადებითი ინვაზიური კარცინომა (Grade 3), მაღალი პროლიფერაციული აქტივობით და ინტენსიური Ki67 ბირთვული პოზიტიურობით; (C) Triple-negative ძუძუს კარცინომა (Grade 3), გამოხატული Ki67 ექსპრესიით; (D) მაღალი ხარისხის Luminal B ინვაზიური კარცინომა (Grade 3), დიფუზური Ki67 ბირთვული პოზიტიურობით. ისრები მიუთითებს მაღალი პროლიფერაციული აქტივობის უბნებზე. მასშტაბი: 100 µm; გადიდება ×400.

სიმსივნის „ბადების“ ანალიზი წარმატებით ჩატარდა ინვაზიური კარცინომის 24 შემთხვევაში. სიმსივნის „ბადების“ საშუალო რაოდენობა შეფასებულ ცხელ ველზე 7.0 „ბადი“ იყო, მნიშვნელობებით 4-დან 12-მდე მერყეობდა. სიმსივნის „ბადები“ ყველაზე ნაკლებად შესამჩნევი იყო სანათურის კარცინომებში და ყველაზე გამოხატული სამმაგად უარყოფით კარცინომებში. სიმსივნის გამრავლებასა და Ki67 პროლიფერაციულ აქტივობას შორის ძლიერი დადებითი კორელაცია გამოვლინდა (სპირმანის $\rho = 0.949$, $p < 0.001$), რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ინვაზიური უჯრედული დისოციაციის გაძლიერებული პოტენციალით სიმსივნეებსაც აქვთ შესაბამისად გაძლიერებული პროლიფერაციული პოტენციალი.

სტრომული სიმსივნის-მაინფილტრირებელი ლიმფოციტების (TIL) შეფასებამ კვლევის ჯგუფებში იმუნური მიკროგარემოს ცვალებადი რეაქციები აჩვენა. პრეინვაზიურმა დაზიანებებმა შედარებით შეზღუდული ლიმფოციტური ინფილტრაცია აჩვენა, TIL-ის საშუალო პროცენტული მაჩვენებლით 12.0%, ხოლო ინვაზიურმა კარცინომებმა სტრომული ლიმფოციტების დაგროვების ზრდა აჩვენა, საშუალო მნიშვნელობით 21.0%. თუმცა, მოლეკულურ ქვეტიპებს შორის მნიშვნელოვანი ჰეტეროგენულობა დაფიქსირდა.

TIL-ის სიმკვრივემ უკუპროპორციული კავშირი აჩვენა როგორც პროლიფერაციულ აქტივობასთან, ასევე სიმსივნის „ბადებთან“. სპირმენის კორელაციის ანალიზმა აჩვენა უარყოფითი კორელაცია TIL პროცენტსა და Ki67 ექსპრესიას შორის ($\rho = -0.353$, $p = 0.035$), ხოლო კიდევ უფრო ძლიერი შებრუნებული კორელაცია დაფიქსირდა TIL სიმკვრივესა და სიმსივნის „ბადების“ აქტივობას შორის ($\rho = -0.949$, $p < 0.001$). ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ სიმსივნეები გაზრდილი ინვაზიური „ბადებით“ მორფოლოგიით შეიძლება ავლენდნენ ეფექტური ადგილობრივი იმუნური პასუხის დარღვევას.

რეციდივთან ასოცირებულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ მორეციდივე ინვაზიურ კარცინომებს უფრო აგრესიული ბიოლოგიური მახასიათებლები ჰქონდათ არარეციდივულ სიმსივნეებთან შედარებით. მორეციდივე სიმსივნეებმა აჩვენა მნიშვნელოვნად მომატებული Ki67 ექსპრესია, გაზრდილი სიმსივნის „ბადების“ აქტივობა და დაბალი სტრომული TIL პროცენტული მაჩვენებლები. ამის საპირისპიროდ, BCL2 ექსპრესიამ არ აჩვენა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი კავშირი რეციდივის სტატუსთან ($p = 0.125$). ეს დაკვირვებები მიუთითებს, რომ პროლიფერაციული აქტივობა და ინვაზიური მორფოლოგიური რემოდელირება შეიძლება უფრო მჭიდროდ იყოს დაკავშირებული რეციდივის რისკთან, ვიდრე მხოლოდ აპოპტოზური მარკერის ექსპრესია.

პარამეტრი	რეციდივი	არარეციდივი	p
Ki67 (%)	მაღალი	შედარებით დაბალი	<0.001
Tumor Budding	მაღალი	დაბალი	<0.001
TIL (%)	დაბალი	მაღალი	<0.001
BCL2 H-score	განსხვავება უმნიშვნელო	—	0.125

ცხრილი 15. რეციდივისა და არარეციდივის ჯგუფების შედარება;

კვლევის შედეგები აჩვენებს, რომ სარძევე ჯირკვლის სიმსივნის პროგრესულ ევოლუციასთან ახლავს პროლიფერაციული აქტივობის ზრდა, ინვაზიური „ბადების“ მორფოლოგიის გაძლიერება და ადგილობრივი იმუნური მიკროგარემოს ცვლილებები. Ki67-ის მაღალი ექსპრესია მჭიდრო კავშირში იყო აგრესიულ მოლეკულურ ქვეტიპთან, სიმსივნის კვირტების/„ბადების“ ზრდასთან და რეციდივთან, მაშინ როდესაც სტრომულმა TIL-ებმა აჩვენეს უკუკავშირი როგორც პროლიფერაციასთან, ასევე „ბადების“ აქტივობასთან. დაკვირვებული ურთიერთობები ადასტურებს იმ კონცეფციას, რომ პროლიფერაციული აქტივაცია და ინვაზიური უჯრედული რემოდელირება ურთიერთდაკავშირებული ბიოლოგიური მოვლენებია სარძევე ჯირკვლის კარცინომის პროგრესირებაში.

კვლევის შედეგების ანალიზი

კვლევის შედეგებმა აჩვენა მნიშვნელოვანი კავშირი პროლიფერაციულ აქტივობას, აპოპტოზური მარკერების ექსპრესიას, სიმსივნის „ბადებსა“ და სტრომულ იმუნურ პასუხს შორის სარძევე ჯირკვლის ეპითელური დაზიანებების მთელ სპექტრში. კეთილთვისებიანი და პრეინვაზიური დაზიანებებიდან ინვაზიურ კარცინომაზე პროგრესულ გადასვლას თან ახლდა Ki67 პროლიფერაციული ინდექსის მნიშვნელოვანი მატება, სიმსივნის „ბადების“ აქტივობის ზრდა და ადგილობრივი იმუნური მიკროგარემოს რემოდელირება. ეს დასკვნები ადასტურებს იმ კონცეფციას, რომ სარძევე ჯირკვლის კანცეროგენეზი ხასიათდება არა მხოლოდ უჯრედების პროლიფერაციის გაზრდით, არამედ ინვაზიური ქცევისა და სიმსივნე-სტრომის ურთიერთქმედების დინამიური ცვლილებებით.

Ki67 არის ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ გამოყენებული იმუნოჰისტოქიმიური მარკერი ძუძუს კარცინომაში პროლიფერაციული აქტივობის შესაფასებლად. ამ კვლევაში, Ki67 ექსპრესიამ აჩვენა პროგრესული ზრდა კეთილთვისებიანი დაზიანებებიდან ინვაზიურ კარცინომამდე, ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული აქტივობით, რომელიც დაფიქსირდა სამმაგად უარყოფით სიმსივნეებში. ეს დასკვნები შეესაბამება წინა კვლევების ანგარიშებს, რომლებიც აჩვენებს, რომ აგრესიული მოლეკულური ქვეტიპები, განსაკუთრებით სამმაგად უარყოფით და HER2-დადებით კარცინომებს, აქვთ მომატებული პროლიფერაციული ინდექსები და უფრო ბიოლოგიურად აგრესიული ქცევა. [12,13] Ki67-ის მაღალ ექსპრესიასა და რეციდივს შორის დაფიქსირებული კავშირი კიდევ უფრო ადასტურებს პროლიფერაციული აქტივაციის პროგნოზულ მნიშვნელობას სარძევე ჯირკვლის კარცინომის პროგრესირებაში.

ჩვენი კვლევის მნიშვნელოვანი დასკვნა იყო Ki67-ის ექსპრესიასა და სიმსივნის „ბადების“ წარმოქმნის აქტივობას შორის ძლიერი დადებითი კავშირი. სიმსივნის კვირტები წარმოადგენს იზოლირებული ცალკეული უჯრედების ან მცირე ინვაზიური კლასტერების არსებობას ინვაზიურ ფრონტზე და სულ უფრო მეტად აღიარებულია, როგორც ეპითელურ-მეზენქიმური გადასვლისა და აგრესიული სიმსივნის ქცევის მორფოლოგიური გამოვლინება. მიუხედავად იმისა, რომ სიმსივნის კვირტები ფართოდ იქნა შესწავლილი კოლორექტალურ კარცინომაში, სულ უფრო მეტი მტკიცებულება მიუთითებს, რომ მას ასევე აქვს პროგნოზული მნიშვნელობა სარძევე ჯირკვლის კარცინომაში. მიმდინარე კოჰორტაში კვირტების წარმოქმნის ინტენსივობასა და პროლიფერაციულ აქტივობას შორის დაფიქსირებული ძლიერი კორელაცია მიუთითებს, რომ მაღალპროლიფერაციული სიმსივნეები ერთდროულად იძენენ გამლიერებულ ინვაზიურ და მიგრაციულ პოტენციალს. ეს დაკვირვება ადასტურებს ბიოლოგიურ კონცეფციას, რომ პროლიფერაციული აქტივაცია და ინვაზიური რემოდელირება ურთიერთდაკავშირებული პროცესებია სიმსივნის პროგრესირების დროს. [14,15]

კვლევამ ასევე აჩვენა უკუკავშირი სტრომულ სიმსივნეში ინფილტრირებულ ლიმფოციტებსა და აგრესიულ მორფოლოგიურ პარამეტრებს შორის. სიმსივნეები, რომლებსაც აღენიშნებოდათ გაზრდილი „ბადების“ აქტივობა და Ki67-ის ექსპრესიის მომატება, TIL-ის უფრო დაბალ პროცენტულ მაჩვენებლებს ავლენდნენ, რაც ადგილობრივი სიმსივნის საწინააღმდეგო იმუნური პასუხის შედარებით დათრგუნვას ან არაეფექტურ აქტივაციას მიუთითებს. სიმსივნეში ინფილტრირებული ლიმფოციტები ამჟამად მასპინძლის იმუნური აქტივობის მნიშვნელოვან ინდიკატორებად ითვლება, განსაკუთრებით სამმაგად უარყოფით და HER2-დადებით სარძევე ჯირკვლის კარცინომებში. რამდენიმე კვლევამ აჩვენა, რომ სტრომული TIL-ის სიმკვრივის მომატება შეიძლება კორელაციაში იყოს გაუმჯობესებულ თერაპიულ პასუხთან და ხელსაყრელ პროგნოზთან სარძევე ჯირკვლის კიბოს გარკვეულ ქვეტიპებში.[12,16] ამის საპირისპიროდ, ლიმფოციტური ინფილტრაციის შემცირებამ შეიძლება ხელი შეუწყოს ადგილობრივ ინვაზიას და პროგრესირებას იმუნურად განპირობებული სიმსივნის არასაკმარისი კონტროლის გზით. ამ კვლევაში გამოვლენილი უკუპროპორციული კორელაცია TIL-ის სიმკვრივესა და სიმსივნის „ბადებს“ წარმოქმნას შორის, შესაბამისად, შეიძლება ასახავდეს პროგრესულ იმუნურ გაქცევას ინვაზიური სიმსივნის ევოლუციის დროს.

BCL2-ის ექსპრესიამ აჩვენა ჰეტეროგენული განაწილება კვლევის ჯგუფებსა და მოლეკულურ ქვეტიპებს შორის. ტრადიციულად, BCL2 განიხილება, როგორც ანტიაპოპტოზური ცილა, რომელიც დაკავშირებულია უჯრედების გადარჩენის გაძლიერებასთან. თუმცა, სარძევე ჯირკვლის კარცინომებში, BCL2-ის დადებითობა პარადოქსულად ასოცირდება რამდენიმე კვლევაში დაბალი ხარისხის ლუმინალურ სიმსივნეებთან და შედარებით ხელსაყრელ პროგნოზთან. რაც, სავარაუდოდ, ასახავს მის მჭიდრო კავშირს ჰორმონული რეცეპტორების სიგნალის გადაცემის გზებთან. ამჟამინდელ კოჰორტაში, ინვაზიურმა კარცინომებმა აჩვენეს BCL2-ის უფრო მაღალი საერთო ექსპრესია კეთილთვისებიან და პრეინვაზიურ დაზიანებებთან შედარებით; თუმცა, ექსპრესიის ნიმუშები ძალიან ჰეტეროგენულია. გარდა ამისა, BCL2-ის ექსპრესიამ არ აჩვენა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი კავშირი რეციდივის სტატუსთან. ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ მხოლოდ ანტიაპოპტოზური სიგნალიზაცია შესაძლოა ადეკვატურად არ ასახავდეს აგრესიულ ბიოლოგიურ ქცევას პროლიფერაციული და მიკროგარემოს პარამეტრების ინტეგრაციის გარეშე.[17,18]

მოლეკულური ქვეტიპის ანალიზმა აჩვენა აშკარა ბიოლოგიური ჰეტეროგენულობა ინვაზიურ კარცინომებს შორის. სამმაგად უარყოფითმა სიმსივნეებმა აჩვენეს ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული აქტივობა და სიმსივნის ყველაზე ძლიერი „ბადების“ მაჩვენებელი, რაც ადასტურებს ამ ქვეტიპის აღიარებულ აგრესიულ კლინიკურ ქცევას. ლუმინალურმა სიმსივნეებმა აჩვენეს შედარებით დაბალი პროლიფერაციული ინდექსები და შემცირებული „ბადების“ აქტივობა, რაც შეესაბამება მათ ზოგადად უფრო

დიფერენცირებულ ფენოტიპს. ეს დაკვირვებები თანხვედრაშია წინა მოლეკულურ და იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევებთან, რომლებიც ავლენენ სიმსივნის ქვეტიპზე დამოკიდებულ განსხვავებებს პროლიფერაციულ სიგნალის გადაცემაში, სტრომის რემოდელირებასა და იმუნური ურთიერთქმედებებში.[19,20]

საერთო ჯამში, ამჟამინდელი მონაცემები მიუთითებს, რომ სარძევე ჯირკვლის კარცინომის პროგრესირებას თან ახლავს პროლიფერაციული სიგნალის გადაცემის, აპოპტოზური რეგულირების, ინვაზიური მორფოლოგიური რემოდელირებისა და ადგილობრივი იმუნური პასუხის კოორდინირებული ცვლილებები.

დასკვნა

ჩვენი კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ძუძუს კარცინომის პროგრესირებას თან ახლავს პროლიფერაციული აქტივობის, აპოპტოზური მარკერების ექსპრესიის, ინვაზიური მორფოლოგიური რემოდელირებისა და სტრომული იმუნური პასუხის მნიშვნელოვანი ცვლილებები. Ki67 ექსპრესიამ აჩვენა პროგრესული ზრდა კეთილთვისებიანი და პრეინვაზიური დაზიანებებიდან ინვაზიურ კარცინომამდე და მჭიდრო კავშირში იყო აგრესიულ მოლეკულურ ქვეტიპთან, სიმსივნის გაზრდილ აქტივობასთან და რეციდივთან. სამმაგად უარყოფითმა სარძევე ჯირკვლის კარცინომებმა აჩვენეს ყველაზე მაღალი პროლიფერაციული ინდექსები და ყველაზე გამოხატული ინვაზიური „ბადების“ ნიმუშები, რაც ადასტურებს მათ აღიარებულ აგრესიულ ბიოლოგიურ ქცევას.

სიმსივნის კვირტის/„ბადების“ წარმოქმნამ აჩვენა ძლიერი დადებითი კორელაცია პროლიფერაციულ აქტივობასთან, რაც მიუთითებს უჯრედულ პროლიფერაციასა და ინვაზიურ რემოდელირებას შორის მჭიდრო ურთიერთქმედებაზე სარძევე ჯირკვლის კიბოს პროგრესირების დროს. ამის საპირისპიროდ, სტრომულმა სიმსივნეში ინფილტრირებულმა ლიმფოციტებმა აჩვენეს უკუპროპორციული კავშირი როგორც Ki67 ექსპრესიასთან, ასევე სიმსივნის „ბადების“ წარმოქმნასთან, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ გაძლიერებული ინვაზიური პოტენციალის მქონე სიმსივნეებმა შეიძლება ერთდროულად აჩვენონ ადგილობრივი იმუნური პასუხის მექანიზმების შემცირებული ეფექტურობა.

BCL2 ექსპრესიამ აჩვენა ჰეტეროგენული განაწილება კვლევის ჯგუფებსა და მოლეკულურ ქვეტიპებს შორის, რაც ასახავს აპოპტოზური რეგულაციის რთულ ბიოლოგიურ როლს სარძევე ჯირკვლის კარცინომაში. მიუხედავად იმისა, რომ BCL2-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა დაზიანების კატეგორიებს შორის, მისი კავშირი რეციდივთან ნაკლებად გამოხატული იყო პროლიფერაციულ და ინვაზიურ მორფოლოგიურ პარამეტრებთან შედარებით.

საერთო ჯამში, ამ კვლევის შედეგები ადასტურებს პროლიფერაციული მარკერების, აპოპტოზური სიგნალის გადაცემის, სიმსივნის „ბადების“ წარმოქმნისა და იმუნური მიკროგარემოს რეაქციის ინტეგრირებული შეფასების მნიშვნელობას ძუძუს კარცინომაში. ამ პარამეტრების კომბინირებული შეფასებამ შეიძლება მოგვაწოდოს ღირებული დამატებითი ინფორმაცია სიმსივნის აგრესიულობისა და პროგრესირების პოტენციალის შესახებ და ხელი შეუწყოს ძუძუს ეპითელური სიმსივნეების ბიოლოგიური სტრატეგიკაციის გაუმჯობესებას.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] Orrantia-Borunda E, Anchondo-Nuñez P, Acuña-Aguilar LE, Gómez-Valles FO, Ramírez-Valdespino CA. Subtypes of Breast Cancer. *Breast Cancer* 2022;31–42. <https://doi.org/10.36255/EXON-PUBLICATIONS-BREAST-CANCER-SUBTYPES> .
- [2] Orrantia-Borunda E, Anchondo-Nuñez P, Acuña-Aguilar LE, Gómez-Valles FO, Ramírez-Valdespino CA. Subtypes of Breast Cancer. *Breast Cancer* 2022;31–42. <https://doi.org/10.36255/EXON-PUBLICATIONS-BREAST-CANCER-SUBTYPES>.
- [3] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *J Am Med Assoc* 2006;295:2492–502. <https://doi.org/10.1001/JAMA.295.21.2492>.
- [4] Ahmad A. Breast Cancer Statistics: Recent Trends. *Adv Exp Med Biol* 2019;1152:1–7. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20301-6_1.
- [5] Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* 2010;363:1938–48. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1001389>.
- [6] Radha G, Raghavan SC. BCL2: A promising cancer therapeutic target. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2017;1868:309–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.06.004>.
- [7] Badr H, Carmack CL, Kashy DA, Cristofanilli M, Revenson TA. Dyadic Coping in Metastatic Breast Cancer. *Health Psychology* 2010;29:169–80. <https://doi.org/10.1037/A0018165>.
- [8] Andreopoulou E, Schweber SJ, Sparano JA, Mcdaid HM. Therapies for triple negative breast cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2015;16:983–98. <https://doi.org/10.1517/14656566.2015.1032246>.
- [9] Kepuladze S, Kokhraidze I, Burkadze G. Comparative analysis of phenotypic features in the primary tumor, tumour buds and metastatic lymph nodes within Luminal A and Luminal B molecular subtypes of invasive ductal carcinoma of the breast. *GEORGIAN SCIENTISTS* 2022;4:117–40. <https://doi.org/10.52340/g.s.2022.04.02.09>.

- [10] Gagliato D de M, Jardim DLF, Marchesi MSP, Hortobagyi GN. Mechanisms of resistance and sensitivity to anti-HER2 therapies in HER2+ breast cancer. *Oncotarget* 2016;7:64431–46. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7043>.
- [11] L Mao WSSXLYRDAR. Melatonin represses metastasis in HER2-positive human breast cancer cells by suppressing RSK2 expression. *Mol Cancer Res : MCR* 2016;14:1159–69.
- [12] Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* (1979) 1989;244:707–12. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.2470152>.
- [13] Ingold Heppner B, Loibl S, Denkert C. Tumor-Infiltrating Lymphocytes: A Promising Biomarker in Breast Cancer. *Breast Care* 2016;11:96. <https://doi.org/10.1159/000444357>.
- [14] Salhia B, Trippel M, Pfaltz K, Cihoric N, Grogg A, Ladrach C, et al. High tumor budding stratifies breast cancer with metastatic properties. *Breast Cancer Res Treat* 2015;150:363–71. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3333-3>.
- [15] Salhia B, Trippel M, Pfaltz K, Cihoric N, Grogg A, Ladrach C, et al. High tumor budding stratifies breast cancer with metastatic properties. *Breast Cancer Res Treat* 2015;150:363–71. <https://doi.org/10.1007/S10549-015-3333-3>.
- [16] Yin L, Duan JJ, Bian XW, Yu SC. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Research* 2020;22:1–13. <https://doi.org/10.1186/S13058-020-01296-5/TABLES/3>.
- [17] Goyal R, Gupta T, Bal A, Sahni D, Singh G. Role of Melatonin in Breast Carcinoma: Correlation of Expression Patterns of Melatonin-1 Receptor with Estrogen, Progesterone, and HER2 Receptors. *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology* 2020;28:518–23. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000788>.
- [18] Huang T, Bao H, Meng Y hua, Zhu J lin, Chu X dong, Chu X li, et al. Tumour budding is a novel marker in breast cancer: the clinical application and future prospects. *Ann Med* 2022;54:1303. <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2070272>.
- [19] Huang T, Bao H, Meng Y hua, Zhu J lin, Chu X dong, Chu X li, et al. Tumour budding is a novel marker in breast cancer: the clinical application and future prospects. *Ann Med* 2022;54:1303–12. <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2070272>.
- [20] Zhang H, Wang J, Yin Y, Meng Q, Lyu Y. The role of EMT-related lncRNA in the process of triple-negative breast cancer metastasis. *Biosci Rep* 2021;41. <https://doi.org/10.1042/BSR20203121>.

Correlations between proliferative-apoptotic activity of breast epithelial tumours and precancerous conditions, tumour “Buds” and tumour-infiltrating lymphocytes: a retrospective immunohistochemical study

Ketevan Shengelaia¹; Irakli Kokhreidze²; Giorgi Burkadze³; Shota Kepuladze⁴

¹PhD student at Tbilisi State Medical University; Doctor; Gynaecologist; ²Associate Professor, Department of Oncology, Tbilisi State Medical University; ³Head of the Department of Molecular Pathology, TSMU; Professor; Doctor, Pathologist; ⁴Associate Professor, Department of Molecular Pathology, TSMU; Doctor, Pathologist;

Abstract

Breast carcinoma exhibits significant biological heterogeneity, characterised by marked differences in proliferative activity, apoptotic regulation, invasive potential, and immune microenvironment. Growing evidence suggests that the interplay among these factors significantly contributes to tumour progression and heterogeneous clinical behaviour. This study aimed to investigate the relationship between proliferative activity, expression of apoptotic markers, tumour “buds” and tumour-infiltrating lymphocytes (TIL) in epithelial breast tumours and pre-tumour states.

This retrospective study included benign, preinvasive, and invasive breast epithelial lesions diagnosed between 2018 and 2025. Histopathological evaluation was performed using hematoxylin and eosin-stained slides. Immunohistochemical analysis included Ki67 as a proliferative marker and BCL2 as an anti-apoptotic marker. Tumour “grids” were assessed at the invasive front, and stromal TILs were assessed according to established international recommendations. Statistical analysis was performed using nonparametric methods for comparison and correlation. A total of 54 cases were included in the study, including benign/hyperplastic lesions, preinvasive lesions, and invasive breast carcinoma. Ki67 expression showed a progressive increase across the neoplastic spectrum, with the highest proliferative activity observed in invasive carcinomas and especially in triple-negative tumours ($p < 0.001$). Tumour “seeding” activity showed a strong positive correlation with Ki67 expression ($\rho = 0.949$, $p < 0.001$), indicating a close relationship between proliferative activation and invasive remodelling. Stromal TIL density showed an inverse correlation with both Ki67 expression and tumour “budding” activity, indicating a relative suppression of the local immune response in highly aggressive tumours. BCL2 expression differed significantly between lesion groups ($p < 0.001$), although its association with recurrence was not statistically significant.

Breast cancer progression is associated with coordinated changes in proliferative signalling, apoptotic regulation, invasive morphological remodelling, and stromal immune response. High Ki67 expression and tumour growth appear to be interrelated indicators of aggressive tumour behaviour, while decreased stromal TIL density may reflect progressive immune escape during

tumour evolution. Integrated assessment of proliferative, apoptotic, and microenvironmental parameters may provide valuable additional information for the biological stratification of breast carcinoma.

Keywords: Breast cancer; Ki67; BCL2; tumor infiltrating lymphocytes; proliferative activity; apoptosis; immunohistochemistry; tumor microenvironment; Tumour Buds;

ავტორთა შესახებ ინფორმაცია:

ქეთევან შენგელაია - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი; ექიმი; გინეკოლოგი;

Ketevan Shengelaia - PhD student at Tbilisi State Medical University; Doctor; Surgeon; Gynaecologist; +995557587000

ირაკლი კობხრიძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის მეანობა-გინეკოლოგიის კათედრის პროფესორი;

Irakli Kokhreidze - Professor of the Department of Oncology, Tbilisi State Medical University;

i.kokhreidze@gmail.com

გიორგი ბურკაძე - თსსუ მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი; პროფესორი;

Giorgi Burkadze - Head of the Department of Molecular Pathology, Tbilisi State Medical University; Professor;

<https://orcid.org/0000-0002-5028-4537>

burkadze@yahoo.com

შოთა კეპულაძე - თსსუ მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი; ექიმი პათოლოგანატომი;

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

Shota Kepuladze - Associate Professor of the Department of Molecular Pathology, Tbilisi State Medical University; Doctor of Pathology;

Shota.kepuladze@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-5919-5581>