

## MT1 მელატონინის რეცეპტორის ექსპრესია სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ტიპისა და დისპლაზიის ხარისხის კოლორექტულ პოლიპებში

ლაშა ჩინჩალაძე<sup>1</sup>; თამარ სალაძე<sup>2</sup>; გიორგი ზურკაძე<sup>3</sup>; შოთა კეპულაძე<sup>4</sup>

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიური ანატომიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი; <sup>3</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი; პროფესორი; <sup>4</sup>თსუ მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი; ექიმი პათოლოგანატომი

### აბსტრაქტი

მელატონინის რეცეპტორებით განპირობებული სიგნალის გადაცემა მონაწილეობს უჯრედული პროლიფერაციის, აპოპტოზისა და სხვა პროცესების რეგულაციაში, რომლებიც შესაძლოა დაკავშირებული იყოს კოლორექტულ კარცინოგენეზთან. მიუხედავად ამისა, MT1 რეცეპტორის ექსპრესია კოლორექტული პრეკურსორული დაზიანებების სხვადასხვა ჰისტოლოგიურ კატეგორიასა და დისპლაზიის ხარისხში არასაკმარისად არის შესწავლილი.

აღნიშნული კვლევის მიზანი იყო MT1 მელატონინის რეცეპტორის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის შეფასება სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ტიპის კოლორექტულ პოლიპებში და მისი კავშირის განსაზღვრა დისპლაზიის არსებობასა და ხარისხთან.

კვლევა მოიცავდა 29 კოლორექტული პოლიპის შემთხვევას. ჰისტოლოგიური შეფასების საფუძველზე დაზიანებები დაჯგუფდა არანეოპლაზიურ პოლიპებად, დაკბილულ დაზიანებებად და ტუბულურ ადენომებად. დისპლაზია კლასიფიცირდა როგორც არარსებული, დაბალი ხარისხის ან მაღალი ხარისხის. MT1-ის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესია შეფასდა ნახევრად რაოდენობრივი H-score სისტემით (0–300), რომელიც ითვალისწინებდა როგორც დადებითი უჯრედების პროცენტულ რაოდენობას, ასევე შეღებვის ინტენსივობას. ჯგუფთაშორისი შედარებისთვის გამოყენებულ იქნა Mann–Whitney U და Kruskal–Wallis-ის ტესტები, ხოლო დისპლაზიის ხარისხსა და MT1-ის ექსპრესიას შორის კავშირი შეფასდა Spearman-ის რანგული კორელაციით.

MT1 H-score-ის მედიანა მთლიან კოჰორტაში შეადგენდა 140-ს (IQR, 60–150). MT1-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად დაბალი იყო დისპლაზიურ დაზიანებებში დისპლაზიის

არმქონე დაზიანებებთან შედარებით: მედიანური H-score შესაბამისად 40 (IQR, 40–45) და 140 (IQR, 120–160) იყო ( $p = 0.00020$ ). დისპლაზიის ხარისხის მიხედვით განსხვავებაც სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი იყო ( $p = 0.000885$ ). MT1 H-score-სა და დისპლაზიის მზარდ ხარისხს შორის გამოვლინდა ძლიერი უარყოფითი კორელაცია (Spearman  $\rho = -0.706$ ;  $p = 0.000019$ ). ფართო ჰისტოლოგიურ კატეგორიებს შორის MT1-ის ექსპრესიის განსხვავება სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო ( $p = 0.383$ ). ასევე არ გამოვლენილა მნიშვნელოვანი კავშირი MT1 H-score-სა და პაციენტის ასაკს, სქესს ან პოლიპის ზომას შორის.

MT1-ის შემცირებული ექსპრესია ასოცირებული იყო კოლორექტულ პოლიპებში დისპლაზიის არსებობასა და მის ხარისხთან. მიღებული მონაცემები მიუთითებს, რომ MT1-ის ექსპრესიის ცვლილება შესაძლოა უფრო მეტად უკავშირდებოდეს დისპლაზიურ ფენოტიპს, ვიდრე მხოლოდ პოლიპის ჰისტოლოგიურ ტიპს. მცირე კოჰორტის გათვალისწინებით, MT1-ის შესაძლო მნიშვნელობა კოლორექტული ნეოპლაზიის ადრეულ ეტაპებზე საჭიროებს შეფასებას უფრო ფართო და დეტალურად კლასიფიცირებულ შემთხვევათა ჯგუფებში.

**საკვანძო სიტყვები:** მელატონინი; MT1; მელატონინის რეცეპტორი; კოლორექტული პოლიპები; დისპლაზია; კოლორექტული ნეოპლაზია;

## შესავალი

კოლორექტული კიბო მსოფლიოში ავთვისებიანი სიმსივნეებით გამოწვეული ავადობისა და სიკვდილიანობის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მიზეზს წარმოადგენს.[1] შემთხვევათა მნიშვნელოვანი ნაწილი ვითარდება წინამორბედი ეპითელური დაზიანებების ეტაპობრივი პროგრესიის შედეგად. კოლორექტული პოლიპების დროული გამოვლენა და მოცილება ამცირებს ინვაზიური კარცინომის განვითარების რისკს, თუმცა სხვადასხვა ტიპის პოლიპს განსხვავებული ნეოპლაზიური პოტენციალი ახასიათებს. ამ განსხვავებების საფუძველს წარმოადგენს როგორც მორფოლოგიური თავისებურებები, ასევე უჯრედული პროლიფერაციის, დიფერენციაციისა და უჯრედშიდა სასიგნალო გზების ცვლილებები.[2]

კოლორექტული პრეკურსორული დაზიანებები მოიცავს კონვენციურ-ტუბულურ ადენომებსა და სერაციულ/დაკბილულ დაზიანებებს. კონვენციური ადენომები ტრადიციულად განიხილება ადენომა-კარცინომის თანმიმდევრობის ნაწილად და მათი პროგრესიის რისკი დაკავშირებულია ზომასთან, არქიტექტურულ თავისებურებებთან და დისპლაზიის ხარისხთან.[2], [3] სერაციული დაზიანებები წარმოადგენს მორფოლოგიურად და მოლეკულურად განსხვავებულ ჯგუფს და კოლორექტული კარცინოგენეზის ალტერნატიულ გზაში მონაწილეობს. მიუხედავად განსხვავებული მოლეკულური საფუძვლისა, ორივე გზის პროგრესიისას ვითარდება ეპითელური დისპლაზია, რომელიც ასახავს ნეოპლაზიურ მორფოლოგიურ და ბიოლოგიურ ცვლილებებს.

კოლორექტული ნეოპლაზიის განვითარებაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება უჯრედული პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის მარეგულირებელი სასიგნალო სისტემების დარღვევას. კონვენციური ადენომა-კარცინომის გზის ერთ-ერთი ცენტრალური მოვლენა Wnt/ $\beta$ -კატენინის სასიგნალო სისტემის დისრეგულაციაა, თუმცა ნეოპლაზიური პროგრესია მხოლოდ ერთი მოლეკულური გზით არ განისაზღვრება. [4] ეპითელიური ჰომეოსტაზის ცვლილებაში მონაწილეობს მრავალი დამატებითი რეგულატორული მექანიზმი, მათ შორის ჰორმონული და რეცეპტორ-დამოკიდებული სიგნალის გადაცემა. ამ კონტექსტში ინტერესს წარმოადგენს მელატონინისა და მისი რეცეპტორების შესაძლო მონაწილეობა კოლორექტული ნეოპლაზიის ბიოლოგიაში.

მელატონინი ძირითადად ეპიფიზში სინთეზირებული ინდოლამინია, რომელიც მონაწილეობს ცირკადული რიტმის რეგულაციაში, თუმცა მისი ბიოლოგიური მოქმედება ამ ფუნქციით არ შემოიფარგლება.[5] მელატონინი ასევე წარმოიქმნება ექსტრაპინეალურ ქსოვილებში, მათ შორის კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში, სადაც მისი კონცენტრაცია შეიძლება მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდეს ცირკულაციაში არსებული დონისგან. ექსპერიმენტული მონაცემებით, მელატონინი მონაწილეობს ოქსიდაციური სტრესის, ანთებითი პასუხის, უჯრედული პროლიფერაციისა და აპოპტოზის რეგულაციაში.[6], [7] ამ პროცესების გათვალისწინებით, მელატონინის სასიგნალო სისტემა შესწავლილია სხვადასხვა ნეოპლაზიური დაავადების კონტექსტშიც.

მელატონინის რეცეპტორებიდან ყველაზე უკეთ შესწავლილია MT1 და MT2, რომლებიც კოდირებულია შესაბამისად **MTNR1A** და **MTNR1B** გენებით და მიეკუთვნება G-პროტეინთან დაწყვილებული რეცეპტორების ოჯახს. რეცეპტორების აქტივაციას შეუძლია შეცვალოს რამდენიმე უჯრედშიდა სასიგნალო მექანიზმი, მათ შორის cAMP/PKA და MAPK/ERK გზები. სიმსივნურ მოდელებში მელატონინთან დაკავშირებული ეფექტები მოიცავს უჯრედული ციკლის რეგულაციას, პროლიფერაციის შემცირებასა და აპოპტოზური პროცესების მოდულაციას. თუმცა ამ მექანიზმების მნიშვნელობა დამოკიდებულია ქსოვილის ტიპზე, რეცეპტორის ექსპრესიაზე და სიმსივნის მოლეკულურ კონტექსტზე.

MT1-ის შესაძლო როლი განსაკუთრებით საინტერესოა კოლორექტული კარცინოგენეზის თვალსაზრისით. კოლორექტულ სიმსივნურ ქსოვილში აღწერილია მელატონინის რეცეპტორული სისტემის ცვლილებები, ხოლო ექსპერიმენტულ კვლევებში მელატონინის სიგნალის გადაცემა დაკავშირებულია პროლიფერაციული და გადარჩენის გზების მოდულაციასთან.[8], [9] ამასთან, მონაცემები MT1-ის ექსპრესიის შესახებ უშუალოდ კოლორექტულ პრეკურსორულ დაზიანებებში გაცილებით შეზღუდულია. განსაკუთრებით ნაკლებად არის შესწავლილი, იცვლება თუ არა MT1-ის რაოდენობრივი ექსპრესია პოლიპის ჰისტოლოგიური ტიპისა და დისპლაზიის ხარისხის შესაბამისად.

ამ საკითხის შესწავლას მნიშვნელობა აქვს კოლორექტული კარცინოგენეზის ადრეული ეტაპების უკეთ დასახასიათებლად. თუ MT1-ის ექსპრესიის ცვლილება უკვე დისპლაზიურ პოლიპებში ვითარდება და დაკავშირებულია დისპლაზიის ხარისხთან, იგი შესაძლოა ასახავდეს მელატონინის რეცეპტორ-დამოკიდებული რეგულაციის

ცვლილებას ინვაზიური კარცინომის ჩამოყალიბებამდე. ამასთან, მხოლოდ სხვადასხვა ჰისტოლოგიურ კატეგორიას შორის განსხვავებების გამოვლენა არ არის საკმარისი იმის დასადგენად, უკავშირდება თუ არა MT1 კონკრეტულ ნეოპლაზიურ გზას, დისპლაზიურ ტრანსფორმაციას ან ორივე პროცესს. ამისათვის საჭიროა რეცეპტორის რაოდენობრივი შეფასება და მისი შედარება როგორც ჰისტოლოგიური ტიპის, ასევე დისპლაზიის ხარისხის მიხედვით.

წინამდებარე კვლევის მიზანს შეადგენს MT1 მელატონინის რეცეპტორის იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის რაოდენობრივი შეფასება სხვადასხვა ჰისტოლოგიური კატეგორიის კოლორექტულ პოლიპებში და მისი კავშირის განსაზღვრა დისპლაზიის არსებობასა და ხარისხთან. დამატებით შეფასდა MT1-ის ექსპრესიის კავშირი კლინიკურ-პათოლოგიურ მახასიათებლებთან, მათ შორის პაციენტის ასაკთან, სქესთან და პოლიპის ზომასთან.

### **მასალა და მეთოდები**

კვლევა წარმოადგენს რეტროსპექტული, დაკვირვებითი, კოჰორტული, ქსოვილზე დაფუძნებული კვლევის ტიპს, რომლის მიზანს წარმოადგენდა სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ტიპისა და დისპლაზიის ხარისხის მქონე კოლორექტულ პოლიპებში მელატონინის რეცეპტორ MT1-ის ექსპრესიის შეფასება. მიმდინარე ანალიზში ჩართული იყო 29 კოლორექტული პოლიპის შემთხვევა, რომელთათვისაც ხელმისაწვდომი იყო შესაბამისი კლინიკურ-პათოლოგიური მონაცემები, ჰემატოქსილინ-ეოზინით (H&E) შეღებილი პრეპარატები და იმუნოჰისტოქიმიური შეფასებისთვის საკმარისი ფორმალინში ფიქსირებული, პარაფინში ჩაყალიბებული (FFPE) ქსოვილი.

**კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმებს** წარმოადგენდა კოლორექტული პოლიპის ჰისტოლოგიურად დადასტურებული დიაგნოზი, საკმარისი რაოდენობის შენარჩუნებული ქსოვილის არსებობა და MT1-ის იმუნოჰისტოქიმიური შეფასების შესაძლებლობა. არასაკმარისი ან მნიშვნელოვნად დაზიანებული ქსოვილის, არასრულფასოვანი იმუნოჰისტოქიმიური რეაქციის ან ინტერპრეტაციისთვის არასაკმარისი ლიზიური კომპონენტის მქონე შემთხვევები კვლევიდან გამოირიცხა.

კლინიკურ-პათოლოგიური მონაცემები შეგროვდა კვლევისთვის შექმნილ სტანდარტიზებულ მონაცემთა ბაზაში. მიმდინარე ანალიზისთვის გამოყენებული ცვლადები მოიცავდა პაციენტის ასაკს, სქესს, ნიმუშის ტიპს, პოლიპის ანატომიურ ლოკალიზაციას, ზომას, ჰისტოლოგიურ კატეგორიას, დისპლაზიის არსებობასა და ხარისხს.

FFPE ქსოვილებიდან მომზადებული H&E-ით შეღებილი პრეპარატები შეფასდა პოლიპის ჰისტოლოგიური ტიპისა და დისპლაზიის არსებობის დასადგენად. მიმდინარე მონაცემთა ბაზაში დაზიანებები დაჯგუფებული იყო სამ ძირითად კატეგორიად: არანეოპლაზიური პოლიპები, სერაციული დაზიანებები და კონვენციური ადენომები.

დისპლაზიური ცვლილებები კლასიფიცირდა როგორც დისპლაზიის გარეშე, დაბალი ხარისხის დისპლაზია და მაღალი ხარისხის დისპლაზია. შეფასებისას

გათვალისწინებული იყო ეპითელური არქიტექტურის დარღვევა, ბირთვული ატიპია, ბირთვების სტრატეფიკაცია და პოლარობის დაკარგვა, მიტოზური აქტივობა და ციტოლოგიური მომწიფების ხარისხი.

MT1-ის იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა ჩატარდა FFPE ქსოვილის წარმომადგენლობით ბლოკებზე, რომლებიც შეიცავდა შეფასებისთვის საკმარისი რაოდენობის ეპითელიუმს. თითოეული შემთხვევისთვის შეირჩა შესაბამისი H&E პრეპარატით დადასტურებული წარმომადგენლობითი უბანი.

MT1-ის იმუნოჰისტოქიმიური რეაქციის შეფასება განხორციელდა მხოლოდ ეპითელურ უჯრედებში. სტრომული, ანთებითი და სისხლძარღვოვანი კომპონენტები რაოდენობრივ შეფასებაში არ იქნა გათვალისწინებული. შედეგის ინტენსივობა კლასიფიცირდა ოთხ კატეგორიად: 0 — სპეციფიკური შედეგის არარსებობა; 1+ — სუსტი, მაგრამ მკაფიოდ იდენტიფიცირებადი შედეგა; 2+ — საშუალო ინტენსივობის შედეგა; და 3+ — ძლიერი შედეგა. თითოეული ინტენსივობის კატეგორიისთვის განისაზღვრა შესაბამისი ეპითელური უჯრედების პროცენტული წილი.

MT1-ის ექსპრესიის ძირითადი რაოდენობრივი მაჩვენებელი იყო H-score, რომელიც გამოითვალა შემდეგი ფორმულით:

$$\text{H-score} = (1 \times 1+ \text{უჯრედების \%}) + (2 \times 2+ \text{უჯრედების \%}) + (3 \times 3+ \text{უჯრედების \%}).$$

შესაბამისად, H-score-ის შესაძლო მნიშვნელობა მერყეობდა 0-დან 300-მდე. ნულოვანი ინტენსივობის მქონე უჯრედები H-score-ში უშუალოდ არ მონაწილეობდნენ. MT1 H-score სტატისტიკურ ანალიზში გამოყენებულ იქნა როგორც უწყვეტი რაოდენობრივი ცვლადი. წინასწარ განსაზღვრული „დაბალი“ და „მაღალი“ ექსპრესიის ხელოვნური ზღვარი არ იქნა გამოყენებული, რადგან კოლორექტული პოლიპებისთვის MT1-ის კლინიკურად ვალიდირებული უნივერსალური cut-off მნიშვნელობა დადგენილი არ არის.

**სტატისტიკური ანალიზი** ჩატარდა MT1 H-score-ისა და კლინიკურ-ჰისტოპათოლოგიური მახასიათებლების ურთიერთკავშირის შესაფასებლად. კატეგორიული ცვლადები წარმოდგენილი იყო აბსოლუტური სიხშირეებითა და პროცენტული მაჩვენებლებით. უწყვეტი ცვლადებისთვის გამოითვალა საშუალო მნიშვნელობა და სტანდარტული გადახრა (SD), ასევე მედიანა და ინტერკვარტილური დიაპაზონი (IQR).

MT1 H-score-ის განაწილებისა და საკვლევი ქვეჯგუფების მცირე მოცულობის გათვალისწინებით, ჯგუფთაშორისი ძირითადი შედარებები განხორციელდა არაპარამეტრული მეთოდებით. ორ დამოუკიდებელ ჯგუფს შორის MT1 H-score-ის შედარებისთვის გამოყენებულ იქნა Mann–Whitney U ტესტი. სამი ან მეტი დამოუკიდებელი ჯგუფის შედარებისთვის გამოყენებულ იქნა Kruskal–Wallis-ის ტესტი.

მნიშვნელოვანი საერთო განსხვავების გამოვლენის შემთხვევაში ჩატარდა წყვილობრივი post hoc შედარებები მრავლობითი ტესტირების Holm-ის კორექციით.

დისპლაზიის ხარისხსა და MT1 H-score-ს შორის მონოტონური კავშირის შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა Spearman-ის რანგული კორელაციის კოეფიციენტი ( $\rho$ ). იგივე მეთოდი გამოყენებულ იქნა MT1 H-score-ის ასაკთან და პოლიპის ზომასთან კავშირის შესაფასებლად.

ყველა სტატისტიკური ტესტი იყო ორმხრივი. სტატისტიკური სარწმუნო მნიშვნელობის ზღვრად განისაზღვრა  $p < 0.05$ .

კვლევა ეფუძნებოდა არქივულ FFPE ქსოვილოვან მასალასა და შესაბამის დეიდენტიფიცირებულ კლინიკურ-პათოლოგიურ მონაცემებს. მონაცემთა დამუშავებისას დაცული იყო პაციენტთა კონფიდენციალურობა.

### კვლევის შედეგები

კვლევის მიმდინარე კოჰორტა მოიცავდა 29 კოლორექტული პოლიპის ნიმუშს. პაციენტთა მედიანური ასაკი იყო 50 წელი (ინტერკვარტილური დიაპაზონი [IQR], 45–55 წელი; დიაპაზონი, 35–65 წელი). მათგან 18 (62.1%) იყო მამაკაცი და 11 (37.9%) - ქალი. ნიმუშების უმრავლესობა მიღებული იყო პოლიპექტომიის შედეგად (23/29; 79.3%), ხოლო ენდოსკოპიური მუკოზური რეზექციითა და ბიოფსიით მიღებული იყო შესაბამისად 3-3 შემთხვევა (10.3%). პოლიპის ზომის მედიანა შეადგენდა 12 მმ-ს (IQR, 10–22 მმ; დიაპაზონი, 5–30 მმ). 20 დაზიანება (69.0%) ლოკალიზებული იყო ადმავალ კოლონში, ხოლო განივ, დადმავალ და სიგმოიდურ კოლონში წარმოდგენილი იყო თითოეულში 3-3 შემთხვევა.

არსებული ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციის მიხედვით, 13 დაზიანება (44.8%) მიეკუთვნებოდა არანეოპლაზიურ პოლიპებს, 9 (31.0%) - სერაციულ დაზიანებებს, ხოლო 7 (24.1%) - კონვენციურ ადენომებს. დისპლაზია არ აღინიშნებოდა 22 შემთხვევაში (75.9%), ხოლო 7 შემთხვევაში (24.1%) წარმოდგენილი იყო დისპლაზიური ცვლილებები. დისპლაზიური დაზიანებებიდან 3 შემთხვევა კლასიფიცირებული იყო დაბალი ხარისხის, ხოლო 4 - მაღალი ხარისხის დისპლაზიად. 13 არანეოპლაზიური პოლიპიდან არც ერთში არ გამოვლენილა დისპლაზია. დისპლაზია აღინიშნებოდა 9 სერაციული დაზიანებიდან 3-ში (33.3%) და 7 კონვენციური ადენომიდან 4-ში (57.1%).

MT1-ის ექსპრესიის შეფასება შესაძლებელი იყო ყველა 29 შემთხვევაში. ექსპრესია შეფასდა ნახევრად რაოდენობრივი H-score სისტემით, რომლის შესაძლო დიაპაზონი შეადგენდა 0–300-ს. მთლიან კოჰორტაში MT1 H-score-ის მედიანა იყო 140 (IQR, 60–150), ხოლო ინდივიდუალური მნიშვნელობები მერყეობდა 20-დან 240-მდე. საშუალო H-score შეადგენდა  $117.2 \pm 58.1$ -ს.

MT1-ის ექსპრესია რიცხობრივად განსხვავდებოდა ძირითად ჰისტოლოგიურ კატეგორიებს შორის, თუმცა საერთო განსხვავებამ სტატისტიკურ მნიშვნელობას ვერ მიაღწია. არანეოპლაზიურ პოლიპებში MT1 H-score-ის მედიანა შეადგენდა 140-ს (IQR,

100–150), სერაციულ დაზიანებებში - 140-ს (IQR, 60–180), ხოლო კონვენციურ ადენომებში - 50-ს (IQR, 40–135). შესაბამისი საშუალო მნიშვნელობები იყო  $126.2 \pm 36.9$ ,  $126.7 \pm 73.0$  და  $88.6 \pm 68.4$ . სამ ჰისტოლოგიურ ჯგუფს შორის საერთო განსხვავება სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო (Kruskal–Wallis  $H = 1.92$ ;  $p = 0.383$ ). შესაბამისად, მიუხედავად იმისა, რომ კონვენციურ ადენომებში აღწერილობითი ანალიზისას MT1-ის შედარებით დაბალი ექსპრესია აღინიშნებოდა, ჯგუფებს შიგნით არსებული ვარიაციულობა არ იძლეოდა მხოლოდ ფართო ჰისტოლოგიური კატეგორიის მიხედვით დამოუკიდებელი განსხვავების დადასტურების შესაძლებლობას.

უფრო მკვეთრი განსხვავება გამოვლინდა დაზიანებების დისპლაზიური სტატუსის მიხედვით დაყოფისას. დისპლაზიის გარეშე დაზიანებებში MT1 H-score-ის მედიანა იყო 140 (IQR, 120–160), ხოლო დისპლაზიურ დაზიანებებში - 40 (IQR, 40–45). საშუალო H-score შესაბამის ჯგუფებში შეადგენდა  $141.4 \pm 44.0$ -ს და  $41.4 \pm 12.1$ -ს. ჯგუფებს შორის განსხვავება სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი იყო (Mann–Whitney  $U = 150.0$ ;  $p = 0.00020$ ). დისპლაზიის გარეშე და დისპლაზიურ დაზიანებებს შორის Hodges–Lehmann-ის შეფასებით H-score-ის სხვაობა დაახლოებით 100 ერთეულს შეადგენდა, bootstrap 95%-იანი სარწმუნოების ინტერვალით დაახლოებით 80–120. რანგზე დაფუძნებული ეფექტის ზომა დიდი იყო (Cliff's  $\delta = 0.95$ ; bootstrap 95% CI, 0.82–1.00), რაც მიუთითებდა MT1-ის ექსპრესიის განაწილებების მხოლოდ მცირე გადაფარვაზე დისპლაზიურ და არადისპლაზიურ დაზიანებებს შორის.

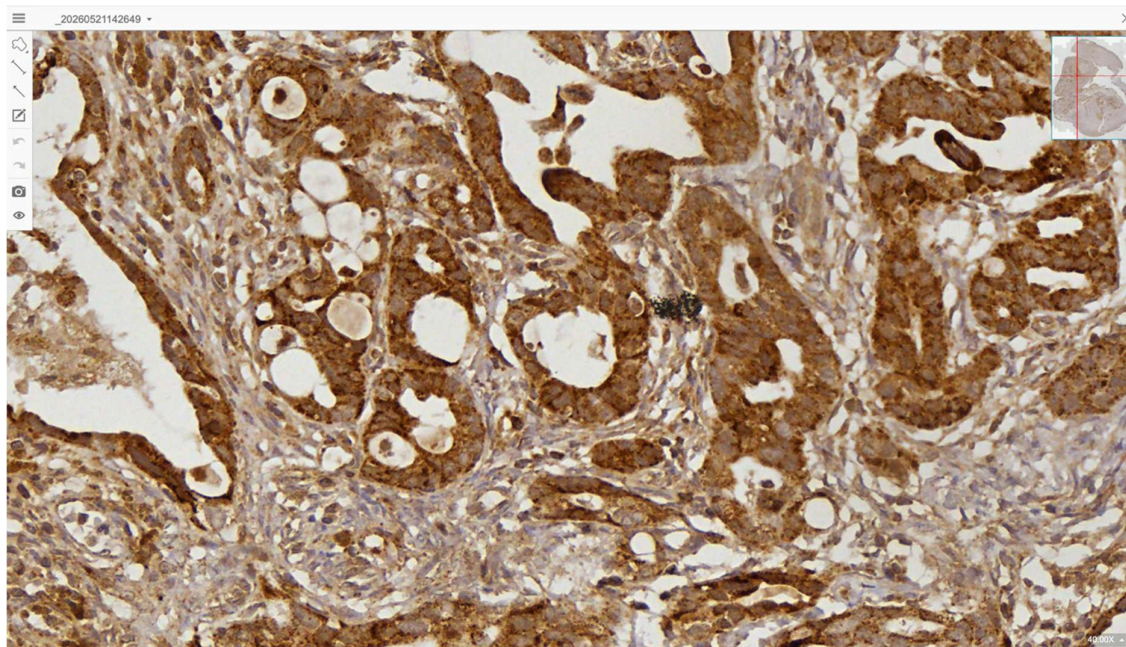
დისპლაზიის სამდონიანი, მოწესრიგებული კატეგორიული ცვლადის სახით შეფასებისას გამოვლინდა MT1-ის ექსპრესიის მკვეთრი შემცირება დისპლაზიის არმქონე დაზიანებებიდან დაბალი და მაღალი ხარისხის დისპლაზიის მიმართულებით. დისპლაზიის გარეშე დაზიანებებში H-score-ის მედიანა იყო 140 (IQR, 120–160), დაბალი ხარისხის დისპლაზიის დროს - 40 (IQR, 40–50), ხოლო მაღალი ხარისხის დისპლაზიის დროს - 40 (IQR, 35–42.5). საშუალო H-score შესაბამის ჯგუფებში შეადგენდა  $141.4 \pm 44.0$ -ს,  $46.7 \pm 11.5$ -ს და  $37.5 \pm 12.6$ -ს. ჯგუფებს შორის საერთო განსხვავება სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი იყო (Kruskal–Wallis  $H = 14.06$ ;  $p = 0.000885$ ).

დისპლაზიის ხარისხის ზრდასა და MT1 H-score-ს შორის გამოვლინდა ძლიერი უარყოფითი მონოტონური კავშირი (Spearman  $\rho = -0.706$ ;  $p = 0.000019$ ). შესაბამისად, დისპლაზიური ცვლილებების სიმძიმის ზრდა ასოცირებული იყო MT1-ის ექსპრესიის შემცირებასთან.

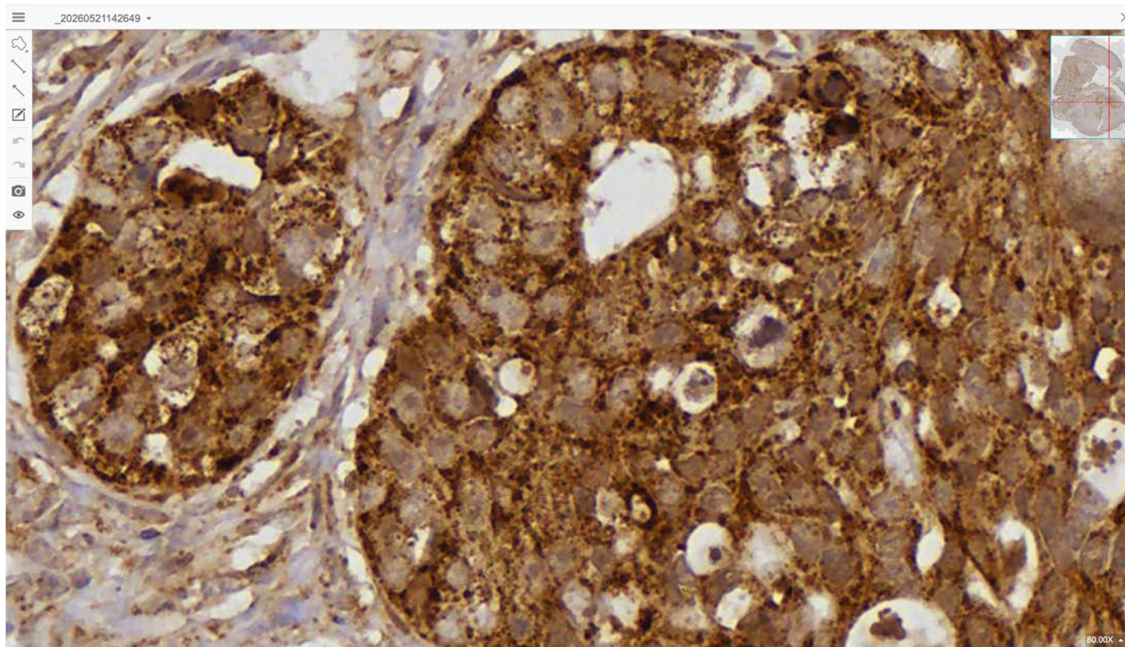
იმის შესაფასებლად, შეიძლებოდა თუ არა აღნიშნული კავშირი განპირობებული ყოფილიყო ფართო ჰისტოლოგიური კატეგორიებით და არა უშუალოდ დისპლაზიით, MT1-ის ექსპრესია დამატებით შეფასდა დისპლაზიის არმქონე დაზიანებებში. ამ ჯგუფში MT1 H-score-ის მედიანა არანეოპლაზიურ პოლიპებში შეადგენდა 140-ს (IQR, 100–150), სერაციულ დაზიანებებში - 165-ს (IQR, 142.5–195), ხოლო იმ სამ შემთხვევაში, რომლებიც ამჟამად კლასიფიცირებულია როგორც კონვენციური ადენომა დისპლაზიის გარეშე - 150-ს (IQR, 135–175). აღნიშნულ ჯგუფებს შორის განსხვავება სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო (Kruskal–Wallis  $p = 0.210$ ).

ცხრილი 1. MT1-ის ექსპრესია ჰისტოლოგიური კატეგორიისა და დისპლაზიის მიხედვით,

| ცვლადი                        | <i>n</i> | MT1 H-score, მედიანა (IQR) | საშუალო $\pm$ SD | <i>p</i> -მნიშვნელობა |
|-------------------------------|----------|----------------------------|------------------|-----------------------|
| <b>ჰისტოლოგიური კატეგორია</b> |          |                            |                  | <b>0.383</b>          |
| არანეოპლაზიური პოლიპი         | 13       | 140 (100–150)              | 126.2 $\pm$ 36.9 |                       |
| სერაციული დაზიანება           | 9        | 140 (60–180)               | 126.7 $\pm$ 73.0 |                       |
| კონვენციური ადენომა           | 7        | 50 (40–135)                | 88.6 $\pm$ 68.4  |                       |
| <b>დისპლაზიის სტატუსი</b>     |          |                            |                  | <b>0.00020</b>        |
| დისპლაზიის გარეშე             | 22       | 140 (120–160)              | 141.4 $\pm$ 44.0 |                       |
| დისპლაზია                     | 7        | 40 (40–45)                 | 41.4 $\pm$ 12.1  |                       |
| <b>დისპლაზიის ხარისხი</b>     |          |                            |                  | <b>0.000885</b>       |
| დისპლაზიის გარეშე             | 22       | 140 (120–160)              | 141.4 $\pm$ 44.0 |                       |
| დაბალი ხარისხის               | 3        | 40 (40–50)                 | 46.7 $\pm$ 11.5  |                       |
| მაღალი ხარისხის               | 4        | 40 (35–42.5)               | 37.5 $\pm$ 12.6  |                       |



სურათი 3. MT1 მელატონინის რეცეპტორის მემბრანული ექსპრესია მაღალი ხარისხის დისპლაზიის კოლორექტულ პოლიპებში IHC, 400X;



სურათი 4. MT1 მელატონინის რეცეპტორის მემბრანული ექსპრესია მაღალი ხარისხის დისპლაზიის კოლორექტულ პოლიპებში IHC, 800X;

#### კვლევის შედეგების განხილვა

წინამდებარე კვლევაში MT1-ის ექსპრესია შეფასდა სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ტიპისა და დისპლაზიის ხარისხის მქონე კოლორექტულ პოლიპებში. ძირითადი შედეგი იყო MT1-ის ექსპრესიის მკვეთრი შემცირება დისპლაზიურ დაზიანებებში. დისპლაზიის გარეშე პოლიპებში MT1 H-score-ის მედიანა შეადგენდა 140-ს, ხოლო დისპლაზიურ დაზიანებებში - 40-ს. განსხვავება სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი იყო და ხასიათდებოდა დიდი ზომით (Cliff's  $\delta = 0.95$ ). ამასთან, დისპლაზიის ხარისხსა და MT1 H-score-ს შორის გამოვლინდა ძლიერი უარყოფითი კორელაცია (Spearman  $\rho = -0.706$ ). მიღებული შედეგები მიუთითებს MT1-ის ექსპრესიის ცვლილების კავშირზე კოლორექტული ეპითელიუმის დისპლაზიურ ტრანსფორმაციასთან, თუმცა კვლევის დიზაინი არ იძლევა მიზეზობრივი ურთიერთობის დადგენის შესაძლებლობას.

მელატონინის მოქმედება სიმსივნის ბიოლოგიაში მრავალმხრივია და მოიცავს როგორც რეცეპტორ-დამოკიდებულ, ასევე რეცეპტორ-დამოუკიდებელ მექანიზმებს. MT1, რომელიც კოდირებულია MTNR1A გენით, წარმოადგენს G-პროტეინთან დაწყვილებულ მემბრანულ რეცეპტორს. მისი აქტივაცია დაკავშირებულია cAMP/PKA, MAPK/ERK და სხვა უჯრედშიდა სასიგნალო მექანიზმების მოდულაციასთან, რომლებიც მონაწილეობენ უჯრედული ციკლის, პროლიფერაციისა და აპოპტოზის რეგულაციაში. ექსპერიმენტულ მოდელებში მელატონინს აღწერილი აქვს ანტიპროლიფერაციული და პროაპოპტოზური მოქმედება, თუმცა ამ ეფექტების მნიშვნელობა ადამიანის კოლორექტულ პრეკურსორულ დაზიანებებში ნაკლებად არის შესწავლილი.

კოლორექტული კანცეროგენეზი მრავალსაფეხურიანი პროცესია, რომლის დროსაც მორფოლოგიურ პროგრესიას თან ახლავს უჯრედული პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის მარეგულირებელი სასიგნალო გზების თანდათანობითი ცვლილებები. ამ კონტექსტში, დისპლაზიურ დაზიანებებში MT1-ის დაბალი ექსპრესია შეიძლება ასახავდეს მელატონინის რეცეპტორ-დამოკიდებული რეგულაციის ცვლილებას ნეოპლაზიური პროგრესიის ადრეულ ეტაპზე.[8], [10], [11] განსაკუთრებით საყურადღებოა ის გარემოება, რომ მიმდინარე კოჰორტაში MT1-ის შემცირება უკვე დაბალი ხარისხის დისპლაზიის მქონე დაზიანებებში იყო გამოხატული. დაბალი ხარისხის დისპლაზიის დროს H-score-ის მედიანა 40 იყო, მაშინ როდესაც დისპლაზიის არმქონე დაზიანებებში შესაბამისი მაჩვენებელი 140-ს შეადგენდა.

მაღალი ხარისხის დისპლაზიის შემთხვევებში MT1-ის ექსპრესია ასევე დაბალი იყო, თუმცა დაბალი და მაღალი ხარისხის დისპლაზიებს შორის დამატებითი სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი შემცირება არ გამოვლენილა. ეს შედეგი არ უნდა იქნეს ინტერპრეტირებული როგორც MT1-ის თანაბარი ბიოლოგიური მდგომარეობა დისპლაზიის ორივე ხარისხში. დაბალი ხარისხის დისპლაზიის ჯგუფი მხოლოდ სამ, ხოლო მაღალი ხარისხის დისპლაზიის ჯგუფი ოთხ შემთხვევას მოიცავდა, რის გამოც ამ ორ ჯგუფს შორის შედარების სტატისტიკური სიმძლავრე შეზღუდულია. მეორე შესაძლო ახსნაა, რომ MT1-ის ექსპრესიის ძირითადი შემცირება დისპლაზიური ტრანსფორმაციის ადრეულ ეტაპზე ხდება და შემდგომი მორფოლოგიური პროგრესიისას შედარებით სტაბილურად დაბალ დონეზე რჩება. ამ ჰიპოთეზის შეფასება უფრო დიდი კოჰორტით არის საჭირო.

კვლევის ეს შედეგები საინტერესოა კოლორექტული ნეოპლაზიის განსხვავებული მოლეკულური გზების გათვალისწინებით. კონვენციური ადენომა-კარცინომის თანმიმდევრობა მჭიდროდ არის დაკავშირებული APC/Wnt/ $\beta$ -კატენინის გზის დისრეგულაციასთან, მაშინ როდესაც სერაციული ნეოპლაზიური გზა ხშირად განსხვავებული მოლეკულური მოვლენებით ვითარდება.[4], [12] მიუხედავად ამ განსხვავებებისა, ორივე გზის საბოლოო დისპლაზიურ ფენოტიპს თან ახლავს პროლიფერაციული კონტროლის დარღვევა. მიმდინარე მონაცემებში MT1-ის დაბალი ექსპრესიის გამოვლენა სხვადასხვა ტიპის დისპლაზიურ დაზიანებაში აჩენს შესაძლებლობას, რომ მისი ცვლილება დაკავშირებული იყოს დისპლაზიისთვის საერთო ბიოლოგიურ პროცესებთან და არა მხოლოდ ერთი კონკრეტული კოლორექტული ნეოპლაზიური გზის აქტივაციასთან. აღნიშნული ინტერპრეტაცია ამ ეტაპზე ჰიპოთეზურია და საჭიროებს დამატებით მოლეკულურ და იმუნოჰისტოქიმიურ მონაცემებს.

MT1-სა და Wnt/ $\beta$ -კატენინის სიგნალის გადაცემას შორის შესაძლო ურთიერთქმედება განსაკუთრებით საინტერესო მიმართულებაა. Wnt/ $\beta$ -კატენინის გზის აქტივაცია კოლორექტული ნეოპლაზიის ერთ-ერთი ცენტრალური მოლეკულური მოვლენაა და  $\beta$ -კატენინის ბირთვული დაგროვება დაკავშირებულია პროლიფერაციასთან დაკავშირებული გენების ტრანსკრიფციულ აქტივაციასთან.[13], [14] ექსპერიმენტულ

სისტემებში აღწერილია მელატონინის გავლენა  $\beta$ -კატენინის სტაბილურობასა და უჯრედშიდა ლოკალიზაციაზე. შესაბამისად, კოლორექტულ პოლიპებში MT1-ის შემცირებული ექსპრესიის პარალელურად  $\beta$ -კატენინის ბირთვული ექსპრესიის რაოდენობრივი შეფასება საშუალებას მოგვცემს განვსაზღვროთ, არსებობს თუ არა ამ ორ მოვლენას შორის ქსოვილოვანი დონის კავშირი.

MT1 H-score-ის თანმიმდევრული უარყოფითი კავშირი დისპლაზიის ხარისხთან ქმნის საფუძველს მისი შემდგომი შესწავლისთვის კოლორექტული ნეოპლაზიის ადრეულ ეტაპებზე. უფრო ფართო კოჰორტაში MT1-ისა და MT2-ის პარალელური შეფასება, დეტალური ჰისტოლოგიური კლასიფიკაცია და მათი დაკავშირება Ki-67-თან,  $\beta$ -კატენინის უჯრედშიდა ლოკალიზაციასთან და ღეროვან უჯრედებთან ასოცირებულ მარკერებთან შესაძლებელს გახდის განისაზღვროს, არის თუ არა მელატონინის რეცეპტორული ცვლილებები დამოუკიდებლად დაკავშირებული კოლორექტული დისპლაზიის განვითარებასა და პროგრესიასთან.

### დასკვნა

კვლევის შედეგების საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ კოლორექტულ პოლიპებში MT1-ის ექსპრესიის შემცირება ასოცირებული იყო დისპლაზიის არსებობასა და მის ხარისხთან. დისპლაზიურ დაზიანებებში MT1 H-score მნიშვნელოვნად დაბალი იყო დისპლაზიის არმქონე პოლიპებთან შედარებით, ხოლო დისპლაზიის ხარისხის ზრდასა და MT1-ის ექსპრესიას შორის გამოვლინდა ძლიერი უარყოფითი კორელაცია. ამავე დროს, MT1-ის ექსპრესიის განსხვავება ფართო ჰისტოლოგიურ კატეგორიებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო, რაც მიუთითებს, რომ მიმდინარე კოჰორტაში რეცეპტორის ექსპრესიის ცვლილება უფრო მეტად უკავშირდებოდა დისპლაზიურ ფენოტიპს, ვიდრე მხოლოდ პოლიპის ჰისტოლოგიურ ტიპს. ასაკთან, სქესთან და პოლიპის ზომასთან მნიშვნელოვანი კავშირი არ გამოვლენილა.

მიღებული მონაცემები საფუძველს იძლევა MT1 განვიხილოთ როგორც კოლორექტული ეპითელიუმის დისპლაზიურ ტრანსფორმაციასთან ასოცირებული პოტენციური ქსოვილოვანი მარკერი.

### გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] R. L. Siegel *et al.*, “Colorectal cancer statistics, 2020,” *CA Cancer J. Clin.*, vol. 70, no. 3, pp. 145–164, May 2020, doi: 10.3322/CAAC.21601.
- [2] N. Arber *et al.*, “Celecoxib for the prevention of colorectal adenomatous polyps,” *New Engl. J. Med.*, vol. 355, no. 9, pp. 885–895, Aug. 2006, doi: 10.1056/nejmoa061652.

- [3] F. M. Giardiello *et al.*, “Primary chemoprevention of familial adenomatous polyposis with sulindac,” *New Engl. J. Med.*, vol. 346, no. 14, pp. 1054–1059, Apr. 2002, doi: 10.1056/nejmoa012015.
- [4] H. Ishiguro *et al.*, “NOTCH1 activates the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in colon cancer,” *Oncotarget*, vol. 8, no. 36, pp. 60378–60389, 2017, doi: 10.18632/ONCOTARGET.19534.
- [5] M. L. Dubocovich and M. Markowska, “Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals,” *Endocrine*, vol. 27, no. 2, pp. 101–110, 2005, doi: 10.1385/ENDO:27:2:101.
- [6] P. T. Ram *et al.*, “Involvement of the mt1 melatonin receptor in human breast cancer,” *Cancer Lett.*, vol. 179, no. 2, pp. 141–150, May 2002, doi: 10.1016/S0304-3835(01)00873-4.
- [7] J. Liu, S. J. Clough, A. J. Hutchinson, E. B. Adamah-Biassi, M. Popovska-Gorevski, and M. L. Dubocovich, “MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective,” *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 56, p. 361, Jan. 2015, doi: 10.1146/ANNUREV-PHARMTOX-010814-124742.
- [8] J. León *et al.*, “Gender-related invasion differences associated with mRNA expression levels of melatonin membrane receptors in colorectal cancer,” *Mol. Carcinog.*, vol. 51, no. 8, pp. 608–618, Aug. 2012, doi: 10.1002/mc.20832.
- [9] K. Jablonska *et al.*, “Expression of the MT1 Melatonin Receptor in Ovarian Cancer Cells,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 15, no. 12, p. 23074, Dec. 2014, doi: 10.3390/IJMS151223074.
- [10] T. B. de Castro, A. L. Mota, N. A. Bordin-Junior, D. S. Neto, and D. A. P. C. Zuccari, “Immunohistochemical Expression of Melatonin Receptor MT1 and Glucose Transporter GLUT1 in Human Breast Cancer,” *Anticancer Agents Med. Chem.*, vol. 18, no. 15, pp. 2110–2116, Feb. 2019, doi: 10.2174/1871520618666181025125532.
- [11] M. Chen *et al.*, “Melatonin MT1 and MT2 receptor ERK signaling is differentially dependent on Gi/o and Gq/11 proteins,” *J. Pineal Res.*, vol. 68, no. 4, May 2020, doi: 10.1111/JPI.12641.
- [12] Y. Lecarpentier, O. Schussler, J. L. Hébert, and A. Vallée, “Multiple Targets of the Canonical WNT/ $\beta$ -Catenin Signaling in Cancers,” *Front. Oncol.*, vol. 9, Nov. 2019, doi: 10.3389/FONC.2019.01248.
- [13] A. Debebe *et al.*, “Wnt/ $\beta$ -catenin activation and macrophage induction during liver cancer development following steatosis,” *Oncogene*, vol. 36, no. 43, pp. 6020–6029, Oct. 2017, doi: 10.1038/onc.2017.207.

- [14] A. Ring, Y. M. Kim, and M. Kahn, "Wnt/Catenin Signaling in Adult Stem Cell Physiology and Disease," *Stem Cell Rev. Rep.*, vol. 10, no. 4, pp. 512–525, Aug. 2014, doi: 10.1007/S12015-014-9515-2.

## MT1 Melatonin Receptor Expression Across Histological Types and Grades of Dysplasia in Colorectal Polyps

### Abstract

Melatonin receptor-mediated signaling is involved in the regulation of cellular proliferation, apoptosis, and other processes potentially relevant to colorectal carcinogenesis. However, MT1 receptor expression across histological categories and grades of dysplasia in colorectal precursor lesions remains insufficiently characterized.

To evaluate immunohistochemical expression of the MT1 melatonin receptor in different histological types of colorectal polyps and determine its association with the presence and grade of dysplasia.

The study included 29 colorectal polyp specimens. Based on histological assessment, lesions were categorized as non-neoplastic polyps, serrated lesions, or conventional adenomas. Dysplasia was classified as absent, low-grade, or high-grade. MT1 immunohistochemical expression was quantified using a semiquantitative H-score (0–300), incorporating both the percentage of positive lesional epithelial cells and staining intensity. Between-group comparisons were performed using the Mann–Whitney U and Kruskal–Wallis tests. The association between increasing dysplasia grade and MT1 expression was assessed using Spearman rank correlation.

The median MT1 H-score in the overall cohort was 140 (IQR, 60–150). MT1 expression was significantly lower in dysplastic than in non-dysplastic lesions, with median H-scores of 40 (IQR, 40–45) and 140 (IQR, 120–160), respectively ( $p = 0.00020$ ). MT1 expression also differed significantly across dysplasia grades ( $p = 0.000885$ ). Increasing dysplasia grade showed a strong inverse correlation with MT1 H-score (Spearman  $\rho = -0.706$ ;  $p = 0.000019$ ). In contrast, MT1 expression did not differ significantly among the broad histological categories of non-neoplastic polyps, serrated lesions, and conventional adenomas ( $p = 0.383$ ). No significant associations were identified between MT1 H-score and patient age, sex, or polyp size.

Reduced MT1 expression was associated with the presence and increasing grade of dysplasia in colorectal polyps, whereas no independent difference was detected among broad histological categories. These findings indicate that altered MT1 expression may be more closely associated with the dysplastic phenotype than with histological category alone. Given the limited cohort size, the potential role of MT1 in early colorectal neoplastic progression requires evaluation in larger cohorts with more detailed histological stratification.

**Keywords:** Melatonin; MT1; Melatonin Receptor; Colorectal Polyps; Dysplasia; Colorectal Neoplasia; H-score.

**ავტორთა შესახებ ინფორმაცია:**

ლაშა ჩინჩალაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის დოქტორანტი;

Lasha Chinchaladze - PhD student at Tbilisi State Medical University;

E-mail: [lashachinchaladze1993@gmail.com](mailto:lashachinchaladze1993@gmail.com)

+995568 011 886

თამარ სალაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიური ანატომიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი

Tamar Saladze - Associate Professor, Department of Pathological Anatomy, Tbilisi State Medical University

E-mail: [t.saladze@tsmu.edu](mailto:t.saladze@tsmu.edu)

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](mailto:burkadze@yahoo.com) [g.burkadze@tsmu.edu](mailto:g.burkadze@tsmu.edu)

Phone Number: 599578833

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

შოთა კეპულაძე - თსუ 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; MD; Pathologist;

E-mail: [Shota.kepuladze@gmail.com](mailto:Shota.kepuladze@gmail.com) [sh.kepuladze@tsmu.edu](mailto:sh.kepuladze@tsmu.edu)

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