

დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

სოფიო კაკალიაშვილი-მაგნიძე

**p16^{INK4a}/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის
თავისებურებები საშვილოსნოს ყელის
ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში და მათი
როლი საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე
დაზიანების გამოვლენაში.**

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად წარდგენილი დისერტაციის
ავტორეფერატი

თბილისი 2024

ნაშრომი შესრულდა დავით ტვილდიანი სამედიცინო უნივერსიტეტის, კლინიკა მედიკლაბ ჯორჯიას, მოზრდილთა და ბავშვთა სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრის და დიაგნოსტიკური ცენტრ ციტოგენის ბაზაზე.

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

1. **ომარ ხარბეიშვილი** - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი.
2. **სერგო თაბაგარი** - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი, დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი.

ოფიციალური ოპონენტები:

დინარა კასრაძე - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი, დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი.

ალექსანდრე თავართქილაძე - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, ასოცირებული პროფესორი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი.

თინათინ გაგუა - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, ასოცირებული პროფესორი, დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი.

დისერტაციის გაცნობა შესაძლებელია დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის დეფნი ჰეარის სახელობის ბიბლიოთეკაში.

დისერტაციის დაცვა შედგება 2024 წლის _____ საათზე დავით ტვილდიანის სახელობის სამედიცინო უნივერსიტეტის (მისამართი: 0159, თბილისი, ლუბლიანას 13/ მიხეილ ჭიაურელის ქუჩა 6) საკონფერენციო დარბაზში.

ავტორეფერატი დაიგზავნა 2024 წლის _____

სწავლული მდივანი
მედიცინის დოქტორი **მარიამ ვაჩნაძე**

ნაშრომის ზოგადი მდგომარეობა

პრობლემის აქტუალურობა

კიბოსწინარე დაზიანებების ადრეულმა გამოვლენამ შეიძლება მნიშვნელოვნად შეამციროს კიბოთი გამოწვეული ავადობის და სიკვდილობის ტვირთი. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში კიბოსწინარე დაზიანების ობიექტურად აღმოჩენის კუთხით, ლიტერატურაში დღემდე არსებული სამეცნიერო შრომების ანალიზის შედეგად, ამ დრომდე არ არსებობს უჯრედული ბიომარკერების ფართოდ გამოყენების შესახებ მკაფიო რეკომენდაციები, რაც განპირობებულია სკრინინგის პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალების ცერვიქსიდან აღებულ ციტოლოგიურ მასალაში ერთდროულად კონვენციური ციტოლოგიის და იმუნოციტოქიმიური შედეგების შესახებ პროსპექტული კვლევების სიმცირით, ციტოლოგიურ მასალაში მორფოლოგიურ მახასიათებლებთან ერთად ბიომარკერების ექსპრესიის მიხედვით პროსპექტული კვლევების სიმცირით, შედეგების არაერთგვაროვანობითა და საკვლევი ჯგუფის მცირე ზომით. შესაბამისად, დასკვნები არ იძლევა საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების არსებული ციტო-ჰისტოპათოლოგიური კლასიფიკაციის და სკრინინგში ჩართული ქალების მართვის ალგორითმის გაუმჯობესების შესაძლებლობას. ციტომორფოლოგიის დაბალი სენსიტიურობის (Colgan et.al.2001) და HPV ტესტირე-

ბის დაბალი სპეციფიკურობის (Schiffman et.al.2007) გამო, ქვეყნებში, სადაც სკრინინგით მოცვა დაბალია და სკრინინგული მასალის რეფერალის შესაძლებლობა შეზღუდულია საქართველოს მსგავსად, ახალგაზრდა რეპროდუქციული ასაკის ქალებში სკრინინგისას განმეორებითი პათოლოგიური (LSIL/ASC-US, დაბალი ხარისხის ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელიური დაზიანება/ატიპური ბრტყელი ეპითელიოციტები განუსაზღვრელი მნიშვნელობის ატიპიით) შედეგების შემთხვევაში არცთუ იშვიათია საშვილოსნოს ყელზე არასაჭირო ინსტრუმენტული ჩარევა (Habbema et.al.2017), მეორეს მხრივ, ფარული კიბოსწინარე დაზიანების არასა-თანადო შეფასების გამო მაღალია ინვაზიური კიბოს განვითარების რისკი. მიღწეული შედეგების მიუხედავად, საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მდგრადი გაიდლაინი ჯერ კიდევ საჭიროებს დახვეწას. აქედან გამომდინარე, გადაწყვიტეთ, საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას განმეორებითი ციტოპათოლოგიური შედეგების მქონე ქალების ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში შეგვესწავლა უჯრედული ციკლის მარეგულირებელი p16^{INK4a} (შემდგომში p16) და უჯრედის პროლიფერაციის ინდიკატორი Ki-67 ცილების (ბიომარკერების) (Petry et.al.2011) ექსპრესიის თავისებურებები და მათი როლი კიბოსწინარე დაზიანების გამოვლენაში.

კვლევის მიზანი

ჩვენი კვლევის მიზანია ბიომარკერებზე დაფუძნებული, არაინვაზიური, ობიექტური მეთოდოლოგიით საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების დროული აღმოჩენის შესაძლებლობის დადგენა და ციტოლოგიური სკრინინგისას შესაძლო ციტომორფოლოგიური შეცდომების პრევენციითა და საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის ამჟამინდელი გაიდლაინის რეკომენდაციების გაუმჯობესებით, საშვილოსნოს ყელის კიბოთი გამოწვეული სიკვდილობის, ასევე რეპროდუქციული ასაკის ქალებში საშვილოსნოს ყელზე არასაჭირო ინტერვენციების შემცირება.

კვლევის ამოცანები

კვლევის ამოცანებს შეადგენს:

- საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგში ჩართული ქალების საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიური მეთოდით შეღებვა და ცერვიკალურ ეპითელურ უჯრედებში ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლა.
- საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16 და Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიასთან ერთად შეღებილი უჯრედების ციტომორფოლოგიური

მახასიათებლებლების შესწავლით, მიღებული შედეგების კატეგორიზაცია.

- საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16 და Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის ანალიზი და შედეგების შედარება კონვენციური ციტოლოგიის შედეგებთან, დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად ჰისტოპათოლოგიის შედეგების გათვალისწინებით.
- ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის იმუნოციტოქიმიური და ციტოპათოლოგიური შედეგების შესწავლის გათვალისწინებით, სკრინინგის გრძელვადიან შედეგებზე დაკვირვება.

ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე

საქართველოში ამ დრომდე არ განხორციელებულა ოპორტუნისტულ სკრინინგში ჩართული ქალების საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ბიომარკერების ექსპრესიის შესახებ კვლევა.

პირველად ჩვენს კვლევაში განხორციელდა ოპორტუნისტული სკრინინგის მონაწილე, პათოლოგიური პაპ ტესტის შედეგების მქონე ქალების განმეორებითი სკრინინგისას, საქართველოში არსებულ ცხრა სამედიცინო ცენტრში შეგროვებულ ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში პაპ ტესტის პარალელურად, ორმაგი

იმუნოციტოქიმიური შეღებვა და ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლა სამ ლაბორატორიაში, დამოუკიდებელი ექსპერტების მიერ.

საკვლევი ჯგუფის მცირე ზომის მიუხედავად, ჩვენს კვლევაში გამოვლინდა, რომ ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის ეპითელურ უჯრედებში ორი ბიომარკერის p16/Ki-67 ერთდროული ექსპრესია, შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიის მიუხედავად და დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად ჰისტოპათოლოგიური შედეგების გათვალისწინებით, მტკიცედ სარწმუნოა და ორმაგი p16/Ki-67 იმუნოციტოქიმიით მაღალი ხარისხის კიბოსწინარე დაზიანების აღმოჩენის მგრძნობელობის მაჩვენებელი უფრო მაღალია, სხვა მსგავსი ტიპის კვლევებთან შედარებით.

პირველად ჩვენს კვლევაში განხორციელდა ორმაგი იმუნოციტოქიმიით შეღებილ საშვილოსნოს ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის ეპითელურ უჯრედებში სხვადასხვა შეღებვის გამოვლენის (p16 და/ან Ki-67) და მორფოლოგიური მახასიათებლების (უჯრედებში ბირთვ/ციტოპლაზმის ფარდობის) შედეგების გათვალისწინებით კატეგორიების შექმნა და მათ შორის კორელაციის შესწავლა, ასევე ეპითელურ უჯრედებში სხვადასხვა შეღებვის გამოვლენის და ანთებითი ინფილტრატის შედეგების

გათვალისწინებით შექმნილ კატეგორიებს შორის კორელაციის შესწავლა.

პირველად ჩვენს კვლევაში განხორციელდა ოპორტუნისტულ სკრინინგში ჩართული ქალების ცერვიკალური ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის იმუნოციტოქიმიური მეთოდით გამოკვლევიდან 3-10 წლის შემდეგ, კვლევაში ჩართული ქალების ციტოლოგიური სკრინინგის შედეგების შეფასება.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული ღირებულება

რისკის მქონე პოპულაციაში, ობიექტური დიაგნოსტიკური მეთოდით ინვაზიური ჩარევის გარეშე საშვილოსნოს ყელის კიბოს კლინიკამდელი დაზიანების ნაადრევი გამოვლენა ერთის მხრივ კიბოს თავიდან აცილების, მეორეს მხრივ რეპროდუქციული ჯანმრთელობის შენარჩუნებისთვის უმნიშვნელოვანესი სტრატეგიაა. ვფიქრობთ, ჩვენი კვლევის შედეგები შეავსებს მოლეკულური ბიოლოგიისა და ციტოლოგიის ურთიერთკავშირის შესახებ არსებულ ფუნდამენტურ ცოდნას და გააუმჯობესებს საშვილოსნოს ყელის სკრინინგისას ციტოლოგიის დიაგნოსტიკურ ღირებულებას. ვფიქრობთ, რომ ჩვენი კვლევის შედეგები, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში უჯრედის ციკლის მარეგულირებელი და პროლიფერაციის ინდიკატორი ცილების ექსპრესიის თვისებებების შესწავლით,

წვლილს შეიტანს კიბოსწინარე დაზიანების მექანიზმების შესახებ ფუნდამენტური ცოდნის გაღრმავებაში.

ჩვენი კვლევის შედეგებს შესაძლოა პრაქტიკული ღირებულება ჰქონდეს ობიექტურ კრიტერიუმზე დაფუძნებული საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების დროული გამოვლენის, და ასევე, სკრინინგ პოპულაციის ეფექტური ტრიაჟისა და მართვის კუთხით. ჩვენი კვლევის შედეგები შესაძლოა საფუძვლად დაედოს საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ციტო-ჰისტოპათოლოგიური კლასიფიკაციის და სკრინინგში ჩართული ქალების მართვის ალგორითმის გაუმჯობესებას, შედეგად ახალგაზრდა ქალებში რეპროდუქციული ჯანმრთელობის რისკების და საშვილოსნოს ყელის კიბოთი გამოწვეული ტვირთის შემცირებას.

ნაშრომის აპრობაცია

დისერტაციის აპრობაცია შედგა დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტში 2023 წლის 7 დეკემბერს.

სადისერტაციო ნაშრომის მასალები და შედეგები ეტაპობრივად მოხსენებულ იქნა:

1. საქართველოს პათოლოგთა ასოციაციის სიმპოზიუმზე, თბილისი, საქართველო 2011წ.

2. ცენტრალური ევროპის რეგიონალურ კონგრესზე, „ქალთა ჯანმრთელობის თანამედროვე საკითხები“, ბათუმი, საქართველო, 2012.
3. First International conference of “women’s rehabilitation association” (WRA), Healthy family, healthy pregnant woman, healthy child.” Tbilisi, Georgia. 2012.
4. დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის სტუდენტთა და ახალგაზრდა მეცნიერთა ასოციაციის პირველ სამეცნიერო კონფერენციაზე, საქართველო. 2013.
5. დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის სტუდენტთა და ახალგაზრდა მეცნიერთა ასოციაციის მეორე სამეცნიერო კონფერენციაზე, თბილისი, საქართველო. 2014.
6. საქართველოს ექიმ ქალთა ასოციაციის სიმპოზიუმზე, თბილისი, საქართველო, 2015.
7. დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის სტუდენტთა და ახალგაზრდა მეცნიერთა ასოციაციის მეთერთმეტე სამეცნიერო კონფერენციაზე „ნობელის დღე“, თბილისი, საქართველო. 2022.
8. GAU International Scientific Conference ‘Build a Btter Future Today with Science”,თბილისი, საქართველო. 2022.
9. 2nd International Conference on Global Advanced Nursing and Healthcare August 11-12, 2023 | London, UK.

10. TMA International Scientific Conference -Medicine: Innovations and Challenges 2023, (Conference has been accredited by EACCME ® with 15 European CME credits). თბილისი, საქართველო. 30.11.2023

თემაზე მუშაობის პერიოდში ჩატარებული აქტივობები:

1. p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიური მეთოდოლოგიის შესწავლა, სერტიფიცირებული სპეციალისტი, 2011 mtm Laboriatories AG, Heidelberg, Germany.
2. 2011-2013 წლებში ორმაგი იმუნოციტოქიმიური მეთოდოლოგიის დანერგვა პირველად საქართველოში შემდეგ სამედიცინო ცენტრებში: 1) კლინიკა მედიკლავ ჯორჯია; 2) მოზრდილთა და ბავშვთა სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი; 3) დიაგნოსტიკური ცენტრი ციტოგენი.
3. ქსოვილოვან და ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაზე დაყრდნობით მორფოლოგიური, იმუნოციტო/ჰისტოქიმიური, მათ შორის ორმაგი იმუნოციტოქიმიის დიაგნოსტიკის პრაქტიკული უნარ-ჩვევების სწავლების დანერგვა, ქართულ-ამერიკული უნივერსიტეტის მედიცინის სკოლა, პათოლოგიის ლაბორატორია; 2022.

4. American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP)-ის სამუშაო ჯგუფის მიერ შემუშავებული “Enduring Consensus Cervical Cancer Screening and Management Guidelines with use of *of p16/ki-67 Dual Stain*” ფარგლებში p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიის გამოყენების რეკომენდაციების განხილვაში მონაწილეობა. June 1, 2023.

<https://www.asccp.org/PublicComments2023>

სადისერტაციო თემის ირგვლივ გამოქვეყნებულია 5 სამეცნიერო სტატია და ერთი აბსტრაქტი.

დისერტაციის სტრუქტურა და მოცულობა

დისერტაცია შედგება 7 ნაწილისგან: შესავალი, სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა, კვლევის მასალა და მეთოდები, საკუთარი კვლევის შედეგები, საკუთარი კვლევის შედეგების განსჯა, დასკვნები, პრაქტიკული რეკომენდაციები. ნაშრომს თან ახლავს გამოყენებული ლიტერატურის ნუსხა და დანართები.

ნაშრომი მოიცავს 100 ნაბეჭდ გვერდს, ილუსტრირებულია 18 სურათით, 14 დიაგრამით და 15 ცხრილით. ნაშრომს თან ახლავს 9 დანართი. ლიტერატურული ნუსხის ჩამონათვალი მოიცავს 97 წყაროს.

კვლევის მასალა და მეთოდები

ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევა ჯვარედინ-სექციური დიზაინისაა. შვეისწავლეთ 21-დან 65 წლის ჩათვლით იმ ქალების ცერვიკალური მასალა, რომელთაც პაპ ტესტის პათოლოგიური შედეგების გამო, საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგ-პროგრამის ფარგლებში, განმეორებითი ტესტირებისთვის მიმართეს გინეკოლოგიური სერვისის განმახორციელებელ კლინიკებს.

საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალა შვეისწავლეთ p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიით (პირველად საქართველოში), მოვახდინეთ მიღებული შედეგების და ასევე რუტინული ცერვიკალური სკრინინგის პათომორფოლოგიური კვლევების შედეგების ანალიზი. რეფერენს სტანდარტს წარმოადგენდა ცერვიკალური ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგები. კვლევის ფარგლებში შვეისწავლეთ 162 შემთხვევის (ქალის) პაპ ტესტის, 29 შემთხვევის ჰისტოპათოლოგიის და 33 შემთხვევის HPV-PCR ტესტის შედეგი. ბიომარკერების ექსპრესიაზე შეფასება განხორციელდა სამ სამედიცინო ცენტრში, დამოუკიდებელი პათოლოგების მიერ.

ცერვიკალური მასალის აღებისას გათვალისწინებული იყო იმუნოციტოქიმიური კვლევისთვის ნაცხის აღების ყველა სათანადო მეთოდოლოგია. საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის ორმაგ p16/Ki-67 ბიომარკერებზე იმუნოციტოქიმიური გამოკვლევა განხორციელდა CINtec PLUS Kit-ის გამოყენებით (REF

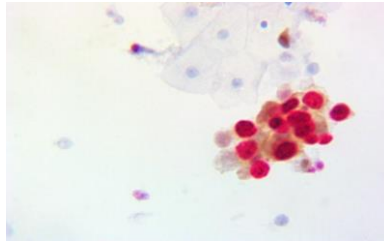
9531, mtm laboratories, Heidelberg, Germany) მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით. სლაიდების შეღებვისას გამოყენებული იქნა Shandon Coverplate TM სისტემა. საშვილოსნოს ყელის ბიოფსიური ნიმუშების p16 იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევა ჩატარდა CINtec ჰისტოლოგიური ნაკრების გამოყენებით (REF 9511, mtm laboratories, Heidelberg, Germany) მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით. ცერვიკალური მასალის შეგროვებისას გათვალისწინებული იყო კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმები. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის შედეგებზე მეთვალყურეობა განხორციელდა 2014-2023 წლების განმავლობაში. კვლევა განხორციელდა დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის 2011 წლის ბიოეთიკური კომისიის დასკვნის საფუძველზე. პაციენტთა საშვილოსნოს ყელის პათომორფოლოგიური დიაგნოზების, ასევე სხვა კლინიკური მონაცემების შეგროვება განხორციელდა კლინიკებში სამედიცინო ისტორიების საფუძველზე, შესაბამისი კლინიკების ბიოეთიკური კომისიების გადაწყვეტილების გათვალისწინებით.

საკუთარი კვლევის შედეგები

იმუნოშეღებვის შედეგები და შედეგების კატეგორიზაცია

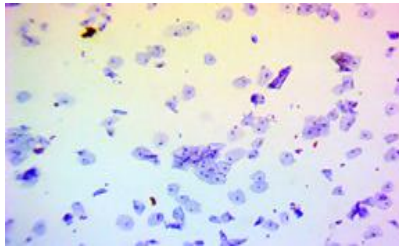
მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით, ჩვენს მიერ p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური მეთოდით შეღებილი სლაიდების სინათლის მიკროსკოპული გამოკვლევით ინტერპრეტაციისას,

ეპითელური უჯრედში ციტოპლაზმის ყავისფერი(p16) და ამავედროულად ბირთვის წითელი (Ki-67) შეღებვა ერთზე მეტ უჯრედულ კლასტერში შეფასებული იქნა როგორც p16/Ki-67 DS დადებითი, ხოლო სლაიდზე უჯრედის ციტოპლაზმის და ბირთვის ერთდროულად სხვადასხვა შეღებვის არარსებობა შეფასებული იქნა როგორც p16/Ki-67 DS უარყოფითი შედეგი.



სურათი N1.

p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიით; x 400 გადიდება



სურათი N2.

p16/Ki-67 DS უარყოფითი, უჯრედული ატიპიის გარეშე; x 100 გადიდება

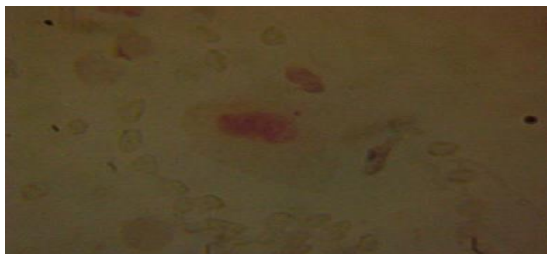
იმუნოციტოშელეზასთან ერთად, ჩვენ მოვახდინეთ შეღებილი ეპითელური უჯრედების შეფასება უჯრედის ბირთვის მიხედვით ქულობრივი შეფასებით Wentzensen-ის და კოლეგების მიერ შემუშავებული კრიტერიუმების გათვალისწინებით (90). ეს მახასიათებლებია Increased nuclear/cytoplasmic ratio, Chromatin granule, Irregular nuclear shape, and Anisonucleosis (გაზრდილი ბირთვულ/ციტოპლაზმური თანაფარდობა, ქრომატინის გრანულები, ბირთვის არარეგულარული ფორმა და ანიზონუკლეოზი). ბირთვის მახასიათებლის მიხედვით, ზემოთ ჩამოთვლილი ერთი და მეტი მახასიათებლის არსებობა შეესაბამებოდა დისპლაზიისთვის დამახასიათებელი უჯრედის ატიპურ კატეგორიას, ხოლო არც ერთი კატეგორიის არსებობა შეესაბამებოდა ატიპიის გარეშე კატეგორიას. იმუნოციტოშელეზის შედეგებთან ერთად ეპითელური უჯრედების ზემოთ აღნიშნული მორფოლოგიური მახასიათებლების გათვალისწინებით, ციტოლოგიური სლაიდების შემდეგი კატეგორიები შევქმენით:

- p16/Ki-67 DS დადებითი, შეღებილი უჯრედები ატიპიით ან მის გარეშე კატეგორია;
- p16/Ki-67 DS უარყოფითი: ა) p16 შეღებვის გამოვლენით (p16 დადებითი), შეღებილი უჯრედები ატიპიით ან მის გარეშე კატეგორია; ბ) Ki-67 შეღებვის გამოვლენით (Ki-67 დადებითი), შეღებილი უჯრედები ატიპიით ან მის

გარეშე კატეგორია; გ) ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვის გამოვლენით (ორმაგი შეღებვის გარეშე), ატიპიით ან მის გარეშე კატეგორია; დ) უჯრედები შეღებვის გამოვლენის გარეშე, ატიპიით ან მის გარეშე კატეგორია.

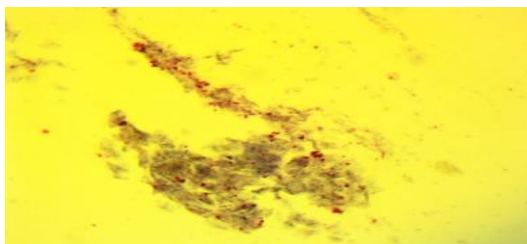
თითოეულ კატეგორიაში შევისწავლეთ ანთებითი ინფილტრატის არსებობა.

კატეგორიები წარმოდგენილია დიაგრამაზე N1, სურათებზე N1-7.



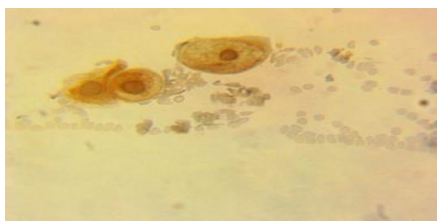
სურათი N3.

p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიის გარეშე. x 400 გადიდება



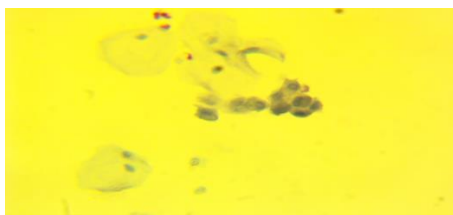
სურათი N4.

p16/Ki-67 DS უარყოფითი, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვა.
x 100 გადიდება



სურათი N6.

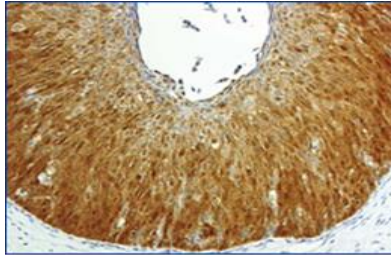
p16/Ki-67 DS უარყოფითი, p16 შეღებვა უჯრედული ატიპიით. x 400
გადიდება



სურათი N7.

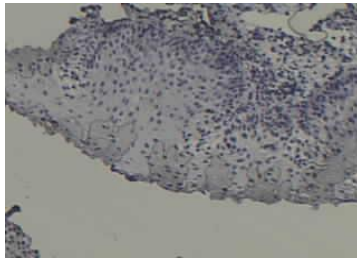
p16/Ki-67 DS უარყოფითი, უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება

საშვილოსნოს ყელის ორაზროვანი ჰისტოპათოლოგიის დიაგნოზის შემთხვევაში, შესაბამისი პარაფინის ბლოკიდან მიღებული ჰისტოლოგიური მასალის p16 იმუნოჰისტოქიმიით (IHC) შეღებვისას შედეგების ინტერპრეტაცია გავნახორციელეთ LAST კვლევის შედეგების შესაბამისად (Darragh et.al.2012), სადაც p16 IHC დადებითი შედეგი (სურათი N12) შეესაბამებოდა HSIL-ს (მაღალი ხარისხის ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელური დაზიანება), ხოლო უარყოფითი p16 IHC შედეგი (სურათი N12) შეესაბამებოდა <CIN1-ს.



სურათი N11.

p16 IHC დადებითი. x 100 გადიდება



სურათი N12.

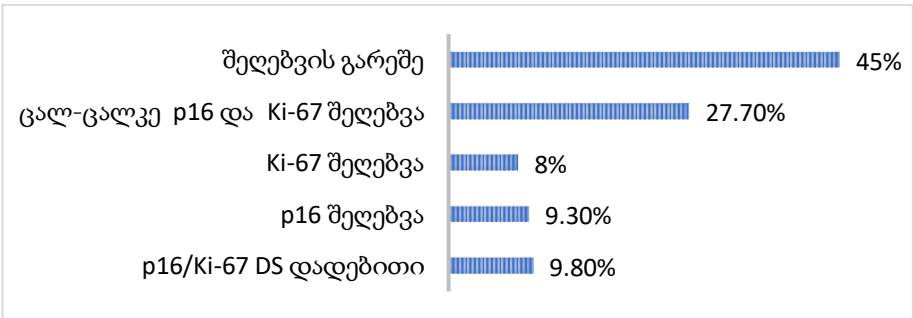
p16 IHC უარყოფითი. x 100 გადიდება

კვლევის შედეგების სტატისტიკური ანალიზი

კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმების გათვალისწინებით, მიღებული მონაცემები შეტანილი იქნა მონაცემთა ბაზაში და ჩატარდა სტატისტიკური ანალიზი. მონაცემები გაანალიზებულია SPSS პროგრამით (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.). კატეგორიულ ცვლადებს შორის შედარებისთვის გამოყენებული იქნა χ^2 ტესტი, ფიშერის ზუსტი ტესტი, Cohen's kappa (κ) სტატისტიკა,

მონაცემებთან შესაფერისობის გათვალისწინებით. საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის იმუნოციტოქიმიური და ციტომორფოლოგიური მეთოდოლოგიებით შესწავლისას მაღალი ხარისხის დისპლაზიის (CIN2+) აღმოჩენის სიზუსტე შეფასდა დიაგნოსტიკური ტესტების მგრძობელობის, სპეციფიკურობის, დადებითი (PPV) და უარყოფითი (NPV) პრედიქტული სიდიდეების და სიზუსტის (Accuracy) გაზომვით, დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად ჰისტოპათოლოგიური შედეგის გათვალისწინებით.

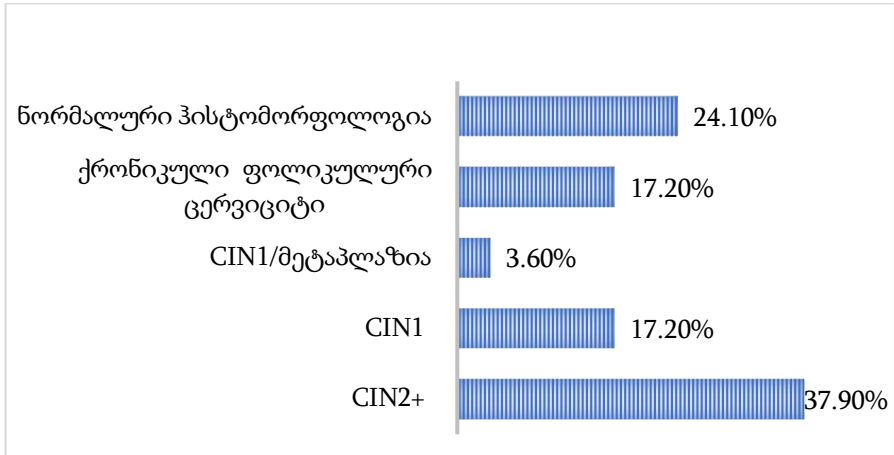
ჩვენს კვლევაში ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური მეთოდით სლaidების შეღებვის კატეგორიები მოცემულია დიაგრამაზე N1. სამ დამოუკიდებელ პათოლოგს შორის, ციტოლოგიური სლaidების p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიური შეღებვის შეფასებისას, დიაგნოზის კონსენსუსი იყო 100%.



დიაგრამა N1.

ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიები

საშვილოსნოს ყელის ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიური შედეგები მოცემულია დიაგრამაზე N2;



დიაგრამა N2.

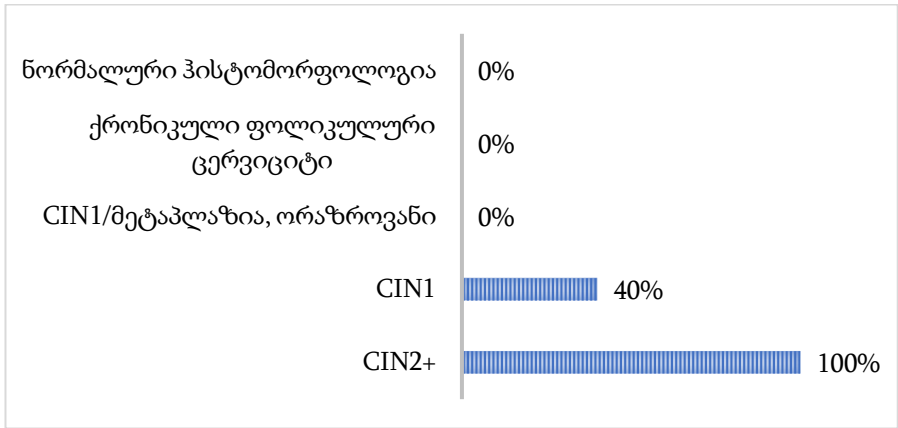
H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება.

საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ მასალაში, განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგები და შესაბამისი ცერვიკალური ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიური შედეგები მოცემულია ცხრილში N1, დიაგრამაზე N3.

H&E ჰისტოპათოლოგია	H&E ჰისტოპათოლოგია, რაოდენობა	განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგების რაოდენობა	დადებითი ორმაგი შეღების პროცენტული განაწილება
CIN2+	11	11	100%
CIN1	5	2	40%
CIN1/მეტაპლაზია (ორაზროვანი)	1	0	0%
ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი	5	0	0%
ნორმალური ჰისტოლოგია	7	0	0%
სულ	29	13	

ცხრილი N1.

განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგები



დიაგრამა N3.

განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგებისას H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების პროცენტული განაწილება

ჩვენი კვლევის შედეგების ანალიზით, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ეპითელური უჯრედების მორფოლოგიური მახასიათებლების განურჩევლად, p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიასა და ჰისტოპათო-ლოგიურად CIN2+ დაზიანებას შორის სარწმუნო კორელაცია გამოვლინდა, $p < 0,001$, ცხრილი N2.

	<i>p</i> სიდიდე
განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიის და H&E CIN2+ შორის კორელაცია	$p=2,5 \times 10^{-6} \ll 0,001$
უჯრედული ატიპიით p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიის და H&E CIN2+ შორის კორელაცია	$p=5,75 \times 10^{-6} \ll 0,001$

ცხრილი N2.

p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიის და H&E CIN2+ შორის კორელაცია, *p* სიდიდე

უჯრედული ატიპიით დადებითი p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და შესაბამისი ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგები მოცემულია ცხრილში N3.

ჰისტოპათოლოგია, n	p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის, უჯრედული ატიპიით
CIN1 n=5	1
CIN1/მეტაპლაზია n=1	0
CIN2+ n=11	10
ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი n=5	0

ცხრილი N3.

H&E ჰისტოპათოლოგიის და უჯრედული ატიპიით p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგების დისტრიბუცია

ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში იმუნოციტოქიმიით შეღებილი უჯრედების ატიპურობის გათვალისწინებით, p16/Ki-67 ორმაგი მარკერების ექსპრესიასა და ჰისტოპათოლოგიურად CIN2+ დაზიანებას შორის სარწმუნო კორელაცია გამოვლინდა, $p < 0,001$, ცხრილი N2.

ჩვენს კვლევაში, საშვილოსნოს ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიით მაღალი ხარისხის დისპლაზიის (CIN2+) გამოვლენის მგრძობელობა, სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy), დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად ჰისტოპათოლოგიის გათვალისწინებით მოცემულია ცხრილში N4.

ჰისტოპათოლოგიის მიხედვით CIN2+ აღმოჩენის შესაძლებლობა	სენსიტიურობა % (95% CI)	სპეციფიკურობა % (95% CI)	PPV %	NPV %	სიზუსტე (Accuracy)
განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა p16/Ki67DS დადებითი იმუნოციტოქიმი	100	89	85	100	93
უჯრედული ატიპიით p16/Ki67DS დადებითი იმუნოციტოქიმი	91	94	91	94	93
პაპ ტესტი	9	100	85	64	66

ცხრილი N4.

p16/Ki67DS იმუნოციტოქიმიით CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა, სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე(Accuracy)

ჩვენი კვლევისას, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში იმუნოციტოქიმიურ მახასიათებელთან ერთად შეღებილი უჯრედის მორფოლოგიური მახასიათებლის გათვალისწინებით შედეგების შეფასებისას, გაუმჯობესდა საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოჩენის სპეციფიკურობა, PPV და NPV, თუმცა შემცირდა სენსიტიურობა, ხოლო სიზუსტე (Accuracy) დარჩა უცვლელი. მორფოლოგიური მახასიათებლების გათვალისწინებით შედეგების შეფასებისას გამოვლინდა „შეცდომა ტიპი 1“ (Type 1 error). აღსანიშნავია, რომ ციტოტექნოლოგსა და პათოლოგებს შორის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოშეღებვის შედეგების შეფასებისას ინტერპრეტაციის ვარიაბელობა არ გამოვლენილა, თუმცა შედეგების ვარიაბელობა გამოვლინდა მარკერების ექსპრესიასთან ერთად მორფოლოგიური შეფასების კომპონენტის დამატების შემთხვევაში.

ერთი შემთხვევის გარდა, p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის ყველა შემთხვევაში, სადაც შესაბამისი ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგი CIN2+ იყო, ციტოლოგიური მასალის ორმაგად შეღებილ უჯრედებში გამოვლინდა უჯრედული ატიპია. ამავე დროს, დადებითი p16/Ki-67 DS იმუნო-ციტოლოგიური სლაიდის ორ შემთხვევაში, რომელშიც შესაბამისი ქსოვილოვანი მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგი CIN1 იყო, ერთ შემთხვევაში უჯრე-

დული ატიპიით p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგი, ხოლო მეორე შემთხვევაში უჯრედული ატიპიის გარეშე p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგი გამოვლინდა, ცხრილი N5.

ჰისტოპათოლოგია	p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმია დადებითი, უჯრედული ატიპიის გარეშე
CIN1 n=5	1
CIN1/მეტაპლაზია n=1	0
CIN2+ n=11	1
ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი n=5	0

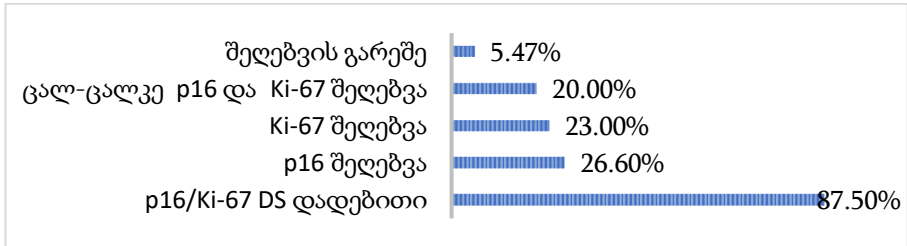
ცხრილი N5.

H&E ჰისტოპათოლოგიის და უჯრედული ატიპიის გარეშე p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგების დისტრიბუცია

კვლევაში ჩართული ქალების ასაკობრივ კატეგორიებად დაჯგუფებით, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგი 28-50 წლის ასაკობრივ შუალედში გამოვლინდა. ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის ცვლადზე ქალის ასაკის ზეგვლენა არ გამოვლინდა ($p>0,05$). თუმცა p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგების პრევალირება გამოვლინდა 40 წლის ასაკის ზემოთ ქალებში.

ციტოლოგიური სლაიდების კატეგორიები ეპითელური უჯრედების იმუნოშეღებვასთან ერთად მორფოლოგიური

მახასიათებლის მიხედვით მოცემულია დიაგრამაზე N4. ატიპურობის ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი ორმაგი შეღებვის კატეგორიაში გამოვლინდა.



დიაგრამა N4.

იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიებში უჯრედული ატიპიის სიხშირე

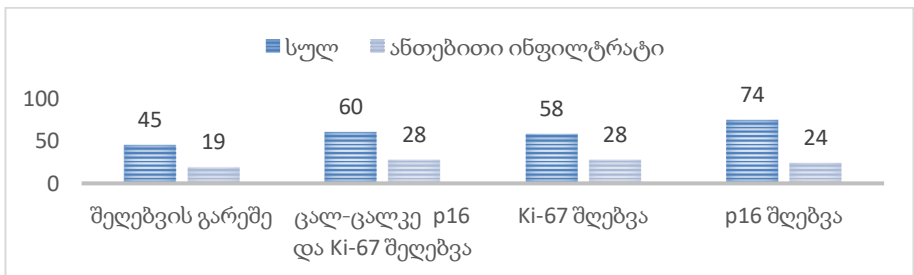
იმუნოციტოქიმიით p16/Ki-67 ორმაგი შეღებვის უარყოფით, მაგრამ შეღებვის მიხედვით სხვადასხვა კატეგორიებში (p16 შეღებვა, Ki-67 შეღებვა, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვა), შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიური მახასიათებლების მიხედვით სხვადასხვა კატეგორიების (უჯრედული ატიპია, ატიპიის გარეშე) გავრცელების შესწავლით, ბიომარკერების ექსპრესიის გავლენა უჯრედული მორფოლოგიის ცვლილებაზე არ გამოვლინდა, $p > 0.57$, $p > 0.73$, $p > 0.81$, შესაბამისად. ცხრილი N6. თუმცა მიღებული შედეგების არსებობა არ გამორიცხავს ბიომარკერების ექსპრესიასა და უჯრედულ მორფოლოგიას შორის დამოკიდებულებას.

	შეღებილი უჯრედები ატიპიით	ანთებითი ინფილტრატი
p16 შეღებვის კატეგორია	$p > 0.57$	$p > 0,29$
Ki-67 შეღებვის კატეგორია	$p > 0.73$	$p > 0,18$
ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვის კატეგორია	$p > 0.81$	$p > 0,89$

ცხრილი N6.

იმუნოშეღებვით სხვადასხვა კატეგორიებში უჯრედული მორფოლოგიის მიხედვით უჯრედული ატიპიის და ანთებითი ინფილტრატების გავრცელებას შორის კორელაცია, p სიდიდე

p16/Ki-67DS იმუნოციტოშეღებვისას ციტოლოგიური სლაიდების კატეგორიები ეპითელური უჯრედების იმუნოშეღებვის და ანთებითი ინფილტრატების გამოვლენის მიხედვით მოცემულია დიაგრამაზე N5.



დიაგრამა N5.

ანთებითი ინფილტრატების გავრცელების სიხშირე იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიებში

იმუნოციტოშელევისას p16/Ki-67 DS უარყოფით, მაგრამ იმუნოშელევის მიხედვით სხვადასხვა კატეგორიებში (p16 შელევა, Ki-67 შელევა, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შელევა) ანთებითი ინფილტრატების გამოვლენის შესწავლისას, ორ მაჩვენებელს შორის სარწმუნო კორელაცია არ დადგინდა, $p > 0,29$, $p > 0,18$, $p > 0,89$, შესაბამისად (ცხრილი N6). თუმცა მიღებული შედეგების არსებობა არ გამორიცხავს ბიომარკერების ექსპრესიასა და უჯრედულ მორფოლოგიას შორის დამოკიდებულებას (ცხრილი N6).

29 შემთხვევიდან, ცერვიკალური ბიოფსიური მასალის ორი შემთხვევა იყო CIN2/CIN3 შედეგი, ხოლო ერთი შემთხვევა CIN1/მეტაპლაზია იყო. აღნიშნული ორაზროვანი ჰისტოლოგიური მასალის p16 IHC შედეგის და შესაბამისი ციტოლოგიური სლაიდების p16/Ki-67 DS იუნოციტოქიმიის შედეგები მოცემულია ცხრილში N 7.

ორაზროვანი H&E ჰისტოპათოლოგია	p16/Ki-67 DS დადებითი	p16 IHC დადებითი	p16 IHC უარყოფითი
CIN1/მეტაპლაზია, n=1	0	0	1
CIN2/3, n=2	2	2	0

ცხრილი N7.

ჰისტოპათოლოგიის და იმუნოშელევის შედეგების განაწილება ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში

საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიით ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლიდან გრძელვადიანი პერიოდის (3-10 წლის) შემდეგ ციტოლოგიური სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილში N8

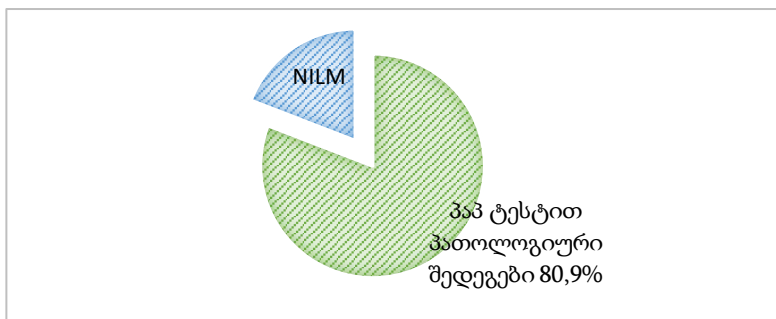
საწყისი სკრინინგის პერიოდი	ასაკი საწყისი სკრინინგისას	p16/Ki-67 DS შედეგები საწყისი სკრინინგისას	პაპ ტესტის შედეგები საწყისი სკრინინგისას	სკრინინგის მეთვალყურეობის პერიოდი	პაპ სკრინინგის მეთვალყურეობის შედეგები
2011	30	უარყოფითი	LSIL	2014	NILM*
2011	34	უარყოფითი	LSIL	2015	NILM
2012	40	უარყოფითი	NILM	2016	NILM
2011	60	უარყოფითი	NILM	2017	NILM
2011	39	უარყოფითი	LSIL	2018	NILM
2012	40	უარყოფითი	LSIL	2018	NILM
2011	41	უარყოფითი	LSIL	2019	NILM
2012	42	უარყოფითი	LSIL	2020	NILM
2011	50	უარყოფითი	LSIL	2021	NILM
2011	63	უარყოფითი	LSIL	2021	NILM

* უარყოფითი ინტრაეპითელურ დაზიანებასა და ავთვისებიანობაზე

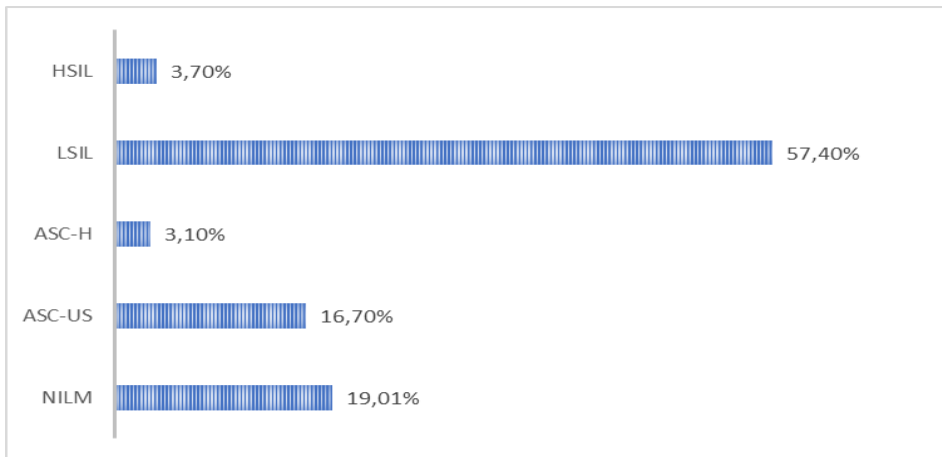
ცხრილი N8.

p16/Ki-67DS უარყოფითი იმუნოციტოქიმიის შედეგების მქონე ქალებში სკრინინგის გრძელვადიანი დაკვირვების (3-10 წელი) შედეგები

ჩვენს კვლევაში ჩართული ქალების სამედიცინო ისტორიების მიხედვით, პაპ ციტოლოგიის საერთო შედეგებიდან, 80.9% შემთხვევაში, ბეტეზდა კატეგორიებით სხვადასხვა პათოლოგიები (SIL - ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელიური დაზიანება, ASC - ატიპური ბრტყელი ეპითელიოციტები) გამოვლინდა (დიაგრამა N6.ა), მათ შორის ყველაზე ხშირი და ყველაზე იშვიათი პაპ ციტოლოგიური შედეგები იყო LSIL და ASC-H, შესაბამისად (დიაგრამა N6.ბ).



ა.

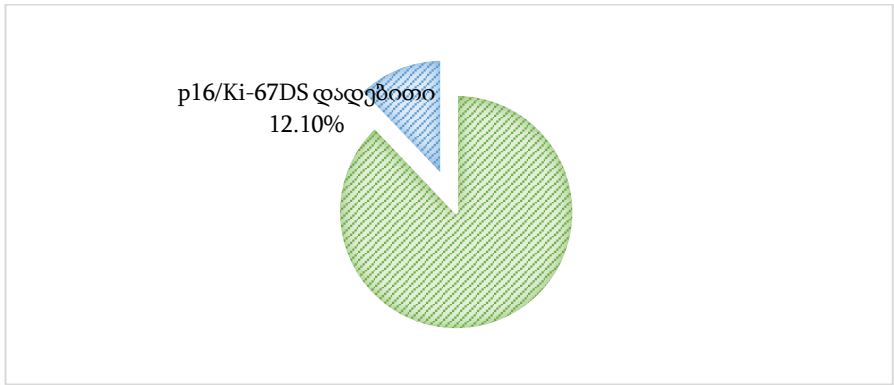


ბ.

დიაგრამა N6.

ა. პ ა პ ტ ე ს ტ ი თ პ ა თოლო გ ი უ რ ი შედეგების ს ა ე რთო ს ი ხ შ ი რ ე
 ბ. პ ა პ ტ ე ს ტ ის შედეგების განაწილება

ბეტუბდა კატეგორიებით პ ა პ ტ ე ს ტ ის პ ა თოლო გ ი უ რ ი შედეგების პროცენტული განაწილება შემდეგი იყო: ASC-US 27 (20,6%); ASC-H 5 (3,8%); LSIL 93 (70,9 %); HSIL 6 (4,6 %). პ ა პ ტ ე ს ტ ის მიხედვით პ ა თოლო გ ი უ რ ი შედეგების მქონე ქალების მხოლოდ 12,2% შემთხვევის ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში გამოვლინდა p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგი, დიაგრამა N7;



დიაგრამა N7.

პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალებში p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგების სიხშირე

პაპ ტესტით ერთი და იმავე პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალების ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვისას, ბიომარკერების ექსპრესიის სხვადასხვა შედეგები გამოვლინდა, ცხრილი N9.

	პაპ ტესტი NILM (31)	პაპ ტესტი ASC-US (27)	პაპ ტესტი ASC-H (5)	პაპ ტესტი LSIL(93)	პაპ ტესტი HSIL (6)	სულ
p16/Ki-67 DS დადებითი	0	1	2	11	2	16
p16 შედეგვა	4	3	0	6	2	15
Ki-67 შედეგვა	3	0	0	10	0	13
ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შედეგვა	7	13	1	23	1	45
შედეგვის გარეშე	17	10	2	43	1	73
სულ	31	27	5	93	6	162

ცხრილი N9.

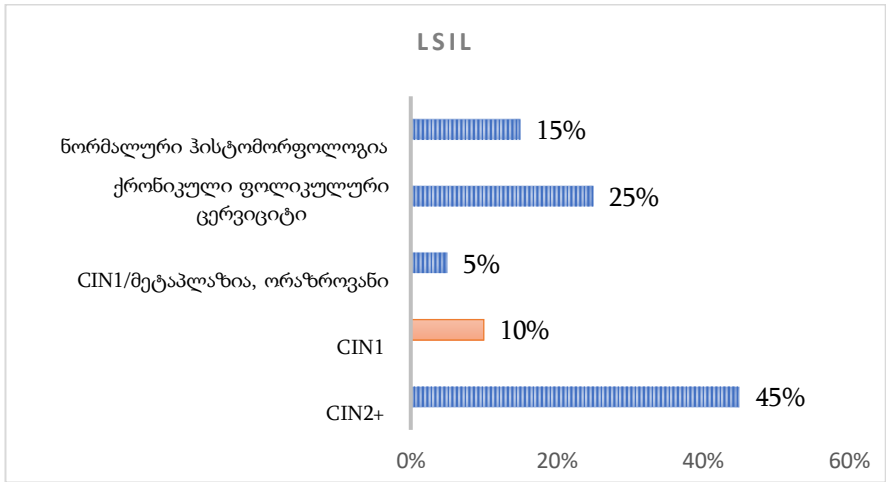
ცერვიკალური ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და პაპ ტესტის შედეგების განაწილება

ჩვენს კვლევაში ჩართული ქალების ჰისტოპათოლოგიის და პაპ ტესტის შედეგების განაწილება მოცემულია ცხრილი N10, დიაგრამა N8 და დიაგრამა N9-ში.

	NILM	ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL	Total
CIN2+		1		9	1	11(37,9%)
CIN1			3	2		5(17,2%)
CIN1/მეტაპლაზია				1		1(3,6%)
ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი				5		5(17,2%)
ნორმალური ჰისტომორფოლოგია		4		3		7(24,1%)
სულ	0	5(17,2%)	3(10%)	20(69%)	1(3,4%)	29

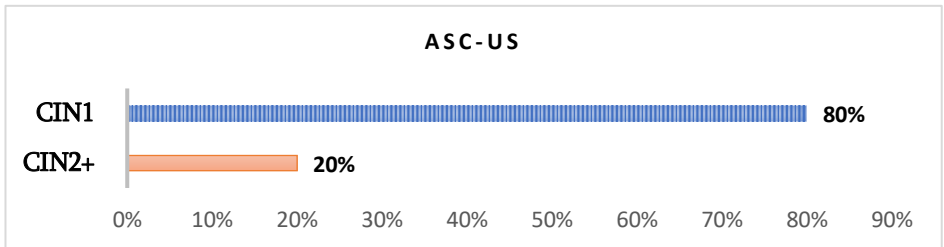
ცხრილი N10.

პაპ ტესტის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება



დიაგრამა N8.

H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება პაპ ტესტით LSIL შედეგების მქონე ქალებში



დიაგრამა N9.

H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება პაპ ტესტით ASC-US შედეგების მქონე ქალებში

ჩვენი კვლევის მონაცემების მიხედვით, პაპ ტესტისთვის CIN2+-ის აღმოჩენის მგრძობელობა, სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy) მოცემულია ცხრილში N4.

საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოსაჩენად p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური და პაპ ციტოლოგიური მეთოდებით შედეგების შედარებისას, კონკორდანტობის დაბალი მაჩვენებელი გამოვლინდა მონაცემების Cohen's kappa (κ) სტატისტიკური ანალიზის მიხედვით (ცხრილი N11).

p16/Ki-67/Pap test	Total 162
Negative/negative	144(88%0)
Positive/positive	2(1,23%)
Positive /negative	12(7,4%)
Negative/positive	4(2,46%)
Agreement, %	% of agreement:90,12
Cohen's kappa (κ)	0,15 Slight agreement

ცხრილი N11.

p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიის და პაპ ტესტის შედეგების Cohen's kappa (κ) ანალიზი

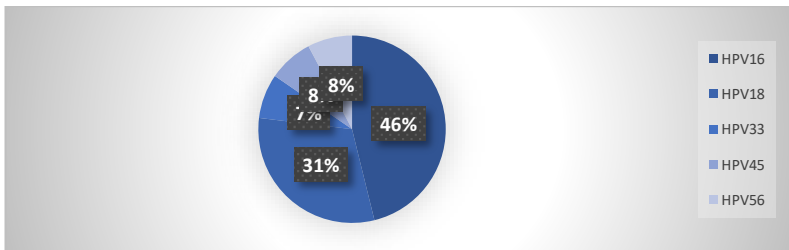
ჩვენი კვლევის ფარგლებში 162 ქალიდან 33 შემთხვევაში იყო ხელმისწვდომი HPV-PCR ტესტის შედეგი. p16/Ki-67 DS, HPV PCR, პაპ ტესტის და და ჰისტოპათოლოგიური შედეგების დისტრიბუცია მოცემულია ცხრილში N12.

HPV PCR	H&E CIN2+	H&E ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი	H&E N	პაპ ტესტი LSIL	პაპ ტესტი ASC-US	P16/Ki67 DS დადებითი
HPV უარყოფითი		3		18		
LR-HPV		1	1		4	
HR-HPV	1			4	2	1

ცხრილი N12.

p16/Ki-67 DS, HPV PCR, პაპ ტესტის და და H&E ჰისტოპათოლოგიური შედეგების დისტრიბუცია

პაპილომა ვირუსული ინფექციის კუთხით, HR-HPV ინფექციის პრევალირებამ ჩვენს კვლევაში შეადგინა 24%. 16,18,33,45 და 56 HR-HPV გენოტიპების პრევალირება მოცემულია დიაგრამა N10.



დიაგრამა N10.

HR-HPV გენოტიპების პრევალირება.

საკუთარი კვლევის შედეგების განსჯა

პაპ ციტოლოგიაზე დაფუძნებული სკრინინგი საქართველოში ნახევარ საუკუნით გვიან დაინერგა ამერიკის და ევროპის წამყვან ქვეყნებთან შედარებით. ამიტომ აღნიშნული ქვეყნებში სკრინინგის გრძელვადიან შედეგებზე დაკვირვების შესაძლებლობის გათვალისწინებით, სკრინინგის არსებული გამოწვევების პირობებში, ჩვენი მიზანი კიბოსწინარე დაზიანების ადრეულად აღმოჩენის ალტერნატიული, გაუმჯობესებული შესაძლებლობის დადგენა იყო. კვლევის დაწყების პერიოდში, საქართველოში პაპ ციტოლოგიაზე დაფუძნებული სკრინინგის სამწლიანი გამოცდილების ფონზე, ქვეყნის მოსახლეობის სიმცირის და ამასთან ერთად სკრინინგით ქვეყნის დაბალი მოცვის გათვალისწინებით, კვლევის განხორციელებისთვის ჩვენთვის რთულ ამოცანას მიუკერძოებელი საკვლევი ნიმუშის შერჩევა წარმოადგენდა. მასალის შერჩევასთან ერთად, ჩვენთვის უმნიშვნელოვანესი იყო შესაძლებლობა გვქონოდა საშვილოსნოს ციტოლოგიურ მასალაში ბიომარკერების ექსპრესია შეეფასებინა დამოუკიდებელ ექსპერტებს, მეორეს მხრივ ბიომარკერების ექსპრესიის შედეგების შედარება მომხდარიყო დამოუკიდებელი პათოლოგების მიერ შეფასებული ცერვიქსის მორფოლოგიური (ციტო-ჰისტოპათოლოგიური) კვლევის შედეგებთან. განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევდა სხვადასხვა ლაბორატორიის მიერ განსხვავებული პაპ

ციტოლოგიური კვლევის შედეგების არსებობა ერთსა და იმავე ქალის შემთხვევაში. აღნიშნული ამოცანის გადასაჭრელად, იმუნოციტოქიმიური დიაგნოსტიკის შესახებ ცოდნისა და უნარების გაზიარება მოხდა სხვადასხვა სამედიცინო ცენტრების ციტოტექნოლოგებთან, პათოლოგებთან, გინეკოლო-გებთან. საბოლოოდ, შესაძლებელი გახდა, რომ ცხრა სამედიცინო დაწესებულებაში იქნა აღებული ცერვიკალური მასალა, ხოლო შემდეგ დამუშავებული და გამოკვლეული იქნა დამოუკიდებელი გინეკოლოგების, ციტოტექნოლოგების და პათოლოგების მიერ, შესაბამისად. ჩვენი კვლევა წარმოადგენს მიღებული შედეგების ანალიზს.

ჩვენი კვლევის შედეგების მიხედვით, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიასა და საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის კიბოსწინარე დაზიანებას (CIN2+) შორის სარწმუნო დამოკიდებულება გამოვლინდა. ჩვენი კვლევის შედეგების თანახმად, ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ორმაგი ბიომარკერების p16/Ki-67 ექსპრესიას, უჯრედების მორფოლოგიური მახასიათებლების მიუხედავად, მაღალი მგრძობელობა და დიაგნოსტიკური ღირებულება აქვს სკრინინგისას საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების CIN2+(HSIL) აღმოსაჩენად. სხვადასხვა ავტორების მიხედვით p16/ Ki-67 DS კვლევის შედეგები განსხვავებულია, ავტორთა ერთი ჯგუფის (Schmidt et.al.2011)

კვლევის მიხედვით ცერვიქსის ციტოლოგიურ დიაგნოსტიკურ მასალაში p16/ Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიას CIN2+ დაზიანების აღმოსაჩენად მაღალი სენსიტიურობა ახასიათებს შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიის მიუხედავად, ხოლო ავტორთა მეორე ჯგუფის (Prevodnik et.al.2019) კვლევის მიხედვით, p16/ Ki-67 DS-ის მაღალი სენსიტიურობა უჯრედების ატიპიის არსებობასთან ერთად ვლინდება. სხვადასხვა ავტორების მიერ p16/ Ki-67 DS და საშვილოსნოს მაღალი ხარისხის დისპლაზიის შესახებ კვლევების შედეგები ჩვენი კვლევის შედეგებთან ერთად მოცემულია ცხრილში N13.

	კვლევები	სენსიტიურობა % (95% CI)	სპეციფიკურობა % (95% CI)	PPV %	NPV %
p16/Ki-67 DS	ჩვენი კვლევა	100,0%	89,0%	85,0%	100,0%
	Gajsek et. al.2021	88,1%	65,2%	44,6%	94,5%
	Ikenberg et. al.2013	86,7%	95,2%	15,6%	99,9%
	Luttmer et. al.2016	93,8%	51,2%	29,9%	2,6%
პაპ ტესტი	ჩვენი კვლევა	9,0%	100,0%	85,0%	64,0%
	Nkwabong et. al.2019	55,5%	75,0%	88,2%	33,3%
	Ikenberg et. al.2013	68,5%	95,4%	13,3%	99,7%

ცხრილი N13.

CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა, სპეციფიკურობა, PPV და NPV სხვადასხვა კვლევების მიხედვით

ჩვენი კვლევისას ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ორმაგი p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიაზე ქალის ასაკის

გავლენა არ გამოვლინდა ($p>0,05$). თუმცა ჩვენი კვლევის ფარგლებში ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის სიხშირე 40 წელზე მეტი ასაკის ქალებში უფრო ხშირი იყო. ცერვიკალური ციტოლოგიაში ორმაგი p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის მაჩვენებლებზე ქალის ასაკის გავლენა ასევე არ გამოვლინდა Luttmer-ის და კოლეგების (Luttmer et.al. 2016) კვლევაში.

ჩვენი კვლევის ფარგლებში, ორმაგი იმუნოციტოქიმიით ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის შესწავლისას გამოვლინდა, რომ უჯრედებში ცალკეული p16 ან Ki-67 ცილების ექსპრესია უჯრედული ატიპიის არსებობაზე გავლენას არ ახდენს ($p>0,05$). ორმაგი შედეგისას ციტოლოგიურ მასალაში სხვადასხვა იმუნოშედგენის კატეგორიების და მორფოლოგიის შესახებ კვლევების შედეგები მწირია. სხვადასხვა კვლევების მიხედვით, p16 იმუნოციტოქიმია მორფოლოგიურ მახასიათებლებთან ერთად აუმჯობესებს მაღალი ხარისხის ცერვიკალური დისპლაზიის აღმოჩენის შესაძლებლობას (Wentzensen et al 2005).

ჩვენი კვლევის შედეგებით გამოვლინდა, რომ უჯრედში ორი ცილის, უჯრედის ციკლის მაინჰიბირებელი p16 ცილის და უჯრედის პროლიფერაციის ინდიკატორის, Ki-67 ცილის, ერთდროულად ექსპრესია, უჯრედის ონკოტრანსფორმაციას უკავშირდება. ხოლო ორმაგი შედეგის პირობებში, უჯრედებში მხოლოდ ერთ-ერთი ცილის ჭარბი ექსპრესია უჯრედის ბირთვის

მიხედვით მორფოლოგიური ცვლილების არსებობაზე არ ახდენს გავლენას.

იმუნოციტოქიმიური შედეგისას, ეპითელური უჯრედების იმუნოშედეგის მაჩვენებლების და ციტოლოგიურ სლაიდზე ანთებითი ინფილტრატების კორელაციის შესწავლით გამოვლინდა, რომ ამ ორ მაჩვენებელს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი დამოკიდებულება არ არის ($p > 0,05$). ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ანთებით ინფილტრატებთან ერთად p16 და Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიაზე გავლენის შესახებ მწირია კვლევები, თუმცა სხვადასხვა ავტორების მიხედვით (Regauer et.al. 2007; Sobacki et.al. 2017) p16 დადებითი უჯრედების და Ki-67 დადებითი უჯრედების ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის ეპითელური უჯრედების მეტაპლაზიის და რეგენერაციის დროს ვლინდება, შესაბამისად.

ჩვენს კვლევაში, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიაზე შესწავლისას გამოვლინდა, რომ ორი ცილის, უჯრედის ციკლის მაინჰიბირებელი p16 ცილის და უჯრედის პროლიფერაციის ინდიკატორის, Ki-67 ცილის, ერთდროულად ექსპრესია, ჰისტოპათოლოგიურად დადასტურებულ საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის არსებობას უკავშირდება. ასევე გამოვლინდა, რომ უჯრედებში შედეგის სხვადასხვა კატეგორიების არსებობაზე გავლენას არ

ახდენს ქალის ასაკი და ანთებითი ინფილტრატების არსებობა. ასევე გამოვლინდა, რომ ციტოლოგიურ მასალაში უჯრედის ბირთვის მორფოლოგიური ცვლილება გავლენას არ ახდენს ცალკე p16 და Ki-67 ცილის ჭარბ ექსპრესიაზე. სხვადასხვა ავტორების მიხედვით, p16 და Ki-67 ცილების ექსპრესიასთან დაკავშირებით: ცილა p16 აჩერებს უჯრედის გაყოფას და მონაწილეობს უჯრედის ფიზიოლოგიური დაბერების პროცესში (Selvam et.al.2018); p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია ვლინდება უჯრედში HR-HPV პერსისტული ინფექციისას ვირუსული E7 ონკოპროტეინით უჯრედული ცილა Rb-ის დაინჰიბირების გზით (Duncan et.al. 2013); ეპითელურ უჯრედებში p16 ცილის ქრონიკულად ჭარბი ექსპრესია Wnt სასიგნალო კასკადის პარაკრინული სტიმულაციით ააქტიურებს უჯრედების პროლიფერაციას და ხელს უწყობს სიმსივნის განვითარებას (Azazmeh et.al.2020); გინეკოლოგიური ტრაქტის სიმსივნეებს შორის, p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია ვლინდება ენდომეტრიუმის მაღალი გრეიდის სეროზული სიმსივნის (Yemelyanova et.al. 2009), ასევე საკვერცხის მაღალი გრეიდის სეროზული სიმსივნის დროს (Vang et.al. 2009); Ki-67 ექსპრესია უჯრედის ბირთვში ვლინდება მიტოზურად აქტიურ როგორც ნორმალურ ასევე ნეოპლაზურ უჯრედებში (Gerdes et.al. 1983); საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ერთდროულად ორი

ცილის p16 და Ki-67 ექსპრესია გამოვლინდა Pap ნეგატიურ HPV პოზიტიურ ქალებში ჰისტოლოგიურად მაღალი ხარისხის დისპლაზიის დროს (Petry et.al. 2011). ჩვენი კვლევის ფარგლებში, ცილა p16 და ცილა Ki-67 ჭარბი ექსპრესია ერთობლივად გამოვლინდა პაპ ტესტით განმეორებითი პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალების ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში. არსებული კვლევების შედეგების მიუხედავად, შემდგომი შესწავლის საკითხია, მოლეკულური მექანიზმების დადგენა, რაც ორივე ცილის ჭარბ ექსპრესიას იწვევს ერთდროულად უჯრედში, მათ შორის, უკავშირდება თუ არა უჯრედის პროლიფერაციის ინდიკატორის, Ki-67 ცილის ჭარბი ექსპრესია უჯრედის ციკლის მაინციბიტორებელი p16 ცილის ჭარბ ექსპრესიას.

ჩვენს კვლევაში პაპ ციტოლოგიით საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების (CIN2+) აღმოჩენის დაბალი მგრძნობელობა გამოვლინდა (ცხრილი N3). ყველა შემთხვევის ციტომორფოლოგიური შედეგების 80,9%-ში პათოლოგიური ცვლილებები გამოვლინდა, მათგან LSIL, ASC-US, ASC-H და HSIL შედეგები შემდეგნაირად გადანაწილდა: 71%, 20,7%, 3,8% და 4,5%, შესაბამისად. პაპ ტესტის სხვადასხვა შედეგის პრევალირების შესახებ მონაცემები სამეცნიერო წყაროების მიხედვით განსხვავებულია. ავტორთა ერთი ჯგუფის კვლევის მიხედვით, პაპ ტესტის პათოლოგიური შედეგების პრევალირება არის 4,7% ხოლო,

LSIL, ASC-US, ASC-H, HSIL კატეგორიების პრევალირება არის 27%, 65% 3.4%, 2.4%, 1.9% and 0.3%, შესაბამისად (Arslan et.al.2018).

ჩვენს კვლევაში, ორმაგი ბიომარკერების p16/Ki-67 ექსპრესიის შესწავლით ქალების საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ მასალაში, განმეორებითი პათოლოგიური SIL და ASC შედეგებით ციტოლოგიური სკრინინგის დროს, გამოვლინდა მაღალი ხარისხის დისპლაზიის გამოვლენის შესაძლებლობა მაღალი საიმედოობით. ჩვენი კვლევის მიხედვით CIN2+-ის გამოვლენის მგრძობელობა და სპეციფიკურობა p16/Ki-67 DS-ით LSIL კატეგორიაში არის 100% და 91%, შესაბამისად, ხოლო ASC (ASC-US და ASC-H) კატეგორიაში არის 100% და 86% შესაბამისად. მეცნიერთა ერთი ჯგუფის კვლევის შედეგების მიხედვით CIN2+ -ის p16/Ki-67 DS-ით გამოვლენის მგრძობელობა და სპეციფიკურობა LSIL კატეგორიაში არის 94.2% და 68.0%, შესაბამისად, ხოლო ASC ჯგუფში სენსიტიურობა და სპეციფიკურობა არის 92.2% და 80.6%, შესაბამისად(Schmidt et al. 2011).

ჩვენს კვლევაში, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალაში საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოსაჩენად ორმაგი ბიომარკერების p16/Ki-67 ექსპრესიის და პაპ ციტოლოგიის შედეგების შედარებისას კონკორდანტობის დაბალი სიდიდე გამოვლინდა(ცხრილი N11).

ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის მიხედვით p16/Ki-67 DS უარყოფითი შედეგების მქონე ქალების საშვილოსნოს ციტომორფოლოგიურ შედეგებზე გრძელვადიანი დაკვირვებით, არც ერთ შემთხვევაში არ გამოვლინდა SIL/ASC ციტოპათოლოგიური შედეგი 3-10 წლის განმავლობაში. მონაცემების სიმცირისა და ციტოლოგიური სკრინინგის დაბალი რეპროდუქციულობის გათვალისწინებით, შეუძლებელია p16 /Ki-67 DS -ით უარყოფითი ქალების შემთხვევაში კორელაციის დადგენა სკრინინგის გრძელვადიან შედეგებზე. თუმცა ცერვიკალური ნაცხის უარყოფითი p16 /Ki-67 DS შედეგების შემთხვევაში, ჩვენს მიერ შესწავლილი მონაცემები შესაძლოა დამამედებელი იყოს სკრინინგის ინტერვალის გაზრდის თვალსაზრისით. სკრინინგის თანამედროვე გაიდლაინის მიხედვით, სკრინინგის ინტერვალის ნორმალური შედეგის შემთხვევაში 5 წელიწადს შეადგენს. შემდგომი რანდომიზებული კვლევების შედეგები საინტერესოა ამ კუთხით. ავტორთა ერთი ჯგუფის კვლევის მიხედვით (Clarke et. al.2019), ქალებს, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის უარყოფითი p16/Ki-67 DS შედეგის შემთხვევაში, CIN2+ ის განვითარების მნიშვნელოვნად დაბალი რისკი აქვთ მომდევნო 5 წლის განმავლობაში.

ჩვენს კვლევაში განსაკუთრებული ყურადღება მიიქცია იმუნოციტოქიმიის p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგის ორმა შემთხვევამ, რომლის დროსაც შესაბამისი ქსოვილოვანი მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგები CIN1 იყო. მათგან ერთი შემთხვევაში ორმაგად შეღებილი უჯრედები ატიპიით, მეორე შემთხვევაში ატიპიის გარეშე იყო (ცხრილი N5). არასაკმარისი მონაცემების გამო, ჩვენს კვლევაში ვერ მოხდა დადგენა, არის თუ არა p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგი ჰისტოლოგიით CIN1 შედეგის მქონე ქალებში მაღალი ხარისხის დისპლაზიის განვითარების პრედიქტორი. ამ ეტაპზე მწირია ინფორმაცია აღნიშნულთან დაკავშირებით, რაც იძლევა იმის მოტივაციას რომ გაგრძელდეს მსგავსი ტიპის კვლევები.

საშვილოსნოს ყელის ჰისტოპათოლოგიის ორაზროვანი დიაგნოზის შემთხვევაში p16 IHC გამოყენება რეკომენდებულია ჯერ კიდევ 2012 წლიდან, შესაბამისი გაიდლაინის მიხედვით (Darragh et.al. 2012). ჩვენი კვლევის ფარგლებში, საშვილოსნოს ყელის ჰისტოპათოლოგიის სამი ორაზროვანი შედეგისას, შესაბამისი პარაფინის ბლოკებიდან მიღებული მასალის p16 იმუნოჰისტოქიმიით შეღებვამ შესაძლებელი გახადა მკაფიოდ მომხდარიყო კიბოსწინა დაზიანების დიფერენცირება არანეოპლაზიური პროცესებისაგან. აქვე აღსანიშნავია, რომ დადებითი p16 IHC შედეგის შემთხვევაში, შესაბამისი

ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალა p16/Ki-67 DS დადებითი იყო, ხოლო p16 IHC უარყოფითი შედეგისას, p16/Ki-67 DS შედეგი უარყოფითი იყო. ვფიქრობთ, რომ ჰისტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში მარკერების ინტეგრაციით დიაგნოსტიკის გაუმჯობესების მსგავსად, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ბიომარკერების ინტეგრაცია ქმნის შესაძლებლობას, რომ მკაფიოდ, ობიექტური კრიტერიუმებით მოხდეს ნეოპლაზური უჯრედული ცვლილებების არანეოლაზური უჯრედული ცვლილებებისგან დიფერენცირება და ამ შესაძლებლობას უჯრედებში ერთდროულად p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის გამოვლენა იძლევა.

ჩვენი კვლევის მიმდინარეობის პერიოდში, სკრინინგის ოპორტუნისტული ბუნების და HPV PCR ტესტირების ხელმისაწვდომობაზე შეზღუდვის გათვლისწინებით, მხოლოდ 33 შემთხვევაში იყო HPV-PCR ტესტის შედეგის შესწავლა შესაძლებელი (ცხრილი N12, დიაგრამა N10). HR-HPV პრევალირება არის 24%, საიდანაც HPV16 და 18 გენოტიპებმა შემთხვევთა უმრავლესობა (>50%) შეადგინა. ჩვენს მონაცემებს შორის, საშვილოსნოს ყელის ჰისტოპათოლოგიით CIN3 დიაგნოზის და შესაბამისი ციტოლოგიის დადებითი p16/ Ki-67 DS შედეგის მხოლოდ ერთი შემთხვევისას (პაპ ციტოლოგიით LSIL) გამოვლინდა HR-HPV PCR დადებითი შედეგი. ჩვენი

მონაცემებიდან სხვა არც ერთ HR-HPV PCR დადებითი შედეგის შემთხვევაში ცერვიკალური ციტოლოგია p16/Ki-67 DS დადებითი არ იყო. მასალის სიმცირის გამო ვერ მოხერხდა ორმაგი იმუნოციტოქიმიის და HR-HPV შედეგების სტატისტიკურად შედარება, თუმცა ჩვენს კვლევაში გამოვლინდა, რომ HR-HPV PCR დადებითი 8 შემთხვევიდან მხოლოდ ერთ შემთხვევაში იყო შესაბამისი ცერვიკალური ციტოლოგიური სლაიდი ორმაგი p16/Ki-67 იმუნოციტოქიმიით დადებითი. იმის გათვალისწინებით, რომ ჩვენს კვლევაში ორმაგი p16/Ki-67 შედეგის იმუნოციტოქიმიით კიბოსწინა დაზიანების აღმოჩენის მაღალი მგრძობელობა გამოვლინდა, შესაძლებელია ვივარაუდოთ HR-HPV ინფექციას მაღალი პრევალირება ხოლო HR-HPV PCR ტესტირებას კიბოსწინა დაზიანების აღმოჩენის დაბალი სპეციფიურობა ახასიათებს, თუმცა რანდომიზებული კვლევების შედეგები ამ კუთხით მნიშვნელოვანია. HPV გენოტიპების გამოვლენა მნიშვნელოვანია ქვეყნებში შესაბამისი ვაქცინების დანერგვით პრევენციული ღონისძიებების უკეთ დაგეგმვისათვის. სხვადასხვა ავტორების მიხედვით HR-HPV გენოტიპების განსაკუთრებით მაღალი პრევალირება ვლინდება განვითარებად ქვეყნებში (Sung et.al.2021).

ჩვენს კვლევაში ჩართული ქალების სამედიცინო ისტორიების შესწავლის საფუძველზე გამოვლინდა სხვადასხვა კომორბიდული

მდგომარეობები, თუმცა მონაცემების სიმცირის გამო კორელაციის დადგენა ვერ მოხერხდა.

ჩვენი კვლევის შეზღუდვები იყო საკვლევი ჯგუფის მოცულობა და შესაძლო შერჩევის ბიაზი. საკვლევი ჯგუფი შედგებოდა საშვილოსნოს ყელის კიბოს ოპორტუნისტული სკრინინგის მონაწილეებისგან, რომლებსაც პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგების ისტორია ჰქონდათ. საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური ტესტირება საქართველოში ჩატარდა სამ ლაბორატორიაში 2011 წლის მარტიდან 2013 წლის დეკემბრამდე. საკვლევი მასალის მოცულობასა და შერჩევის ბიაზზე შესაძლოა შემდეგმა ფაქტორებმა იქონია გავლენა: 1) იმუნოციტოქიმიური გამოკვლევა შესთავაზეს ყველა ზემოთ ნახსენებ ქალს. თუმცა პაპ ციტოლოგიის განმეორებითი პათოლოგიური შედეგების ან სხვადასხვა სამედიცინო ცენტრიდან არაიდენტური ციტოლოგიის შედეგების მიუხედავად, ყველას არ ჰქონდა p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური გამოკვლევის ჩატარების ხელმისაწვდომობა. 2,5 წლის განმავლობაში ჩვენ შევძელით შეგვესწავლა მხოლოდ 169 ქალის ციტოლოგიური მასალა ორმაგ იმუნოციტოქიმიურ კვლევაზე, აქედან შვიდი ციტოლოგიური სლაიდი არადამაკმაყოფილებელი იყო შესასწავლად; 2) საშვილოსნოს ყელის ბიოფსია ჩატარდა გინეკოლოგების რეკომენდაციით. ყველა ქალს არ ჰქონდა შეთავაზება ბიოფსიის ჩატარებაზე საშვილოსნოს ყელის კიბოს

სკრინინგის პროტოკოლის გათვალისწინებით და ასევე რეკომენდაციის მიუხედავად, ყველა ქალს არ გაუკეთებია ბიოფსია. ზოგიერთ შემთხვევაში, საშვილოსნოს ყელის დაზიანებების კრიოდესტრუქცია ხდებოდა ჰისტოლოგიური მასალის შეგროვების გარეშე. ამიტომ, ჩვენთვის ხელმისაწვდომი იყო მხოლოდ 29 ბიოფსიური მასალის 29 H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგი, საიდანაც სამ შემთხვევაში არსებული პარაფინის ბლოკის მასალაზე დაყრდნობით ჩვენ განვახორციელეთ p16 IHC გამოკვლევა. HPV ტესტირებაზე ხელმისაწვდომობა დაბალი იყო. სამწუხაროდ, აღნიშნული პერიოდის შემდეგ საქართველოში დამატებითი მონაცემების შეგროვების საშუალება არ გვქონდა. მიუხედავად ზემოთ განხილული შეზღუდვებისა, გადაწყვეტიტ შეგროვებული მასალა დაგვემუშავებინა, შეგვესწავლა და ანალიზი გამოგვექვეყნებინა.

ჩვენი კვლევის სიძლიერე მდგომარეობს იმაში, რომ პათომორფოლოგიური და იმუნოშეღებვის მეთოდოლოგიებით გამოკვლევა ჩატარდა ერთდროულად აღებულ ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში. იმუნოშეღებვა და პათომორფოლოგიური შედეგების შეგროვება განხორციელდა სხვადასხვა სამედიცნო ცენტრებიდან შეგროვებულ ცერვიკალურ მასალაზე, ხოლო დიაგნოსტირებას ახორციელებდნენ კლინიკური პათოლოგიის მიმართულების დამოუკიდებელი ექსპერტები.

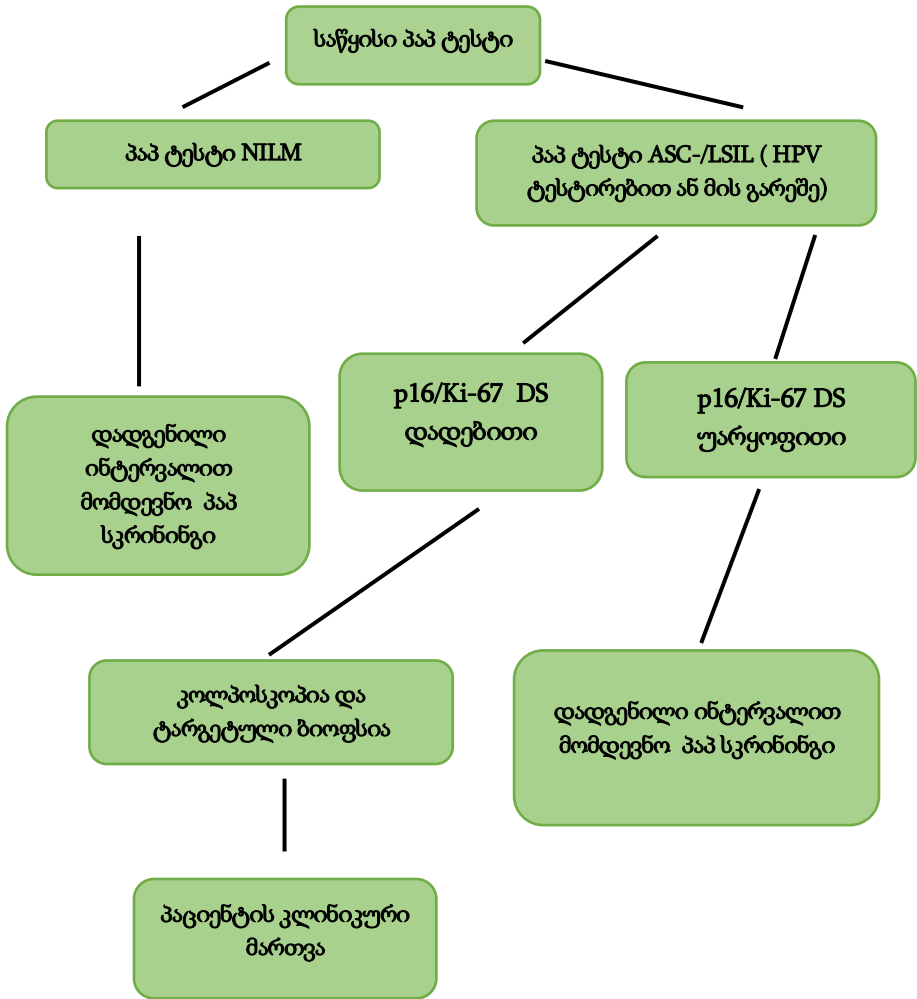
ჩვენი კვლევის შედეგები გვადლევს იმის მტკიცების შესაძლებლობას, რომ ბიოქიმიური ცვლილებები წინ უსწრებს ციტო-მორფოლოგიურ ცვლილებებს და მათი აღმოჩენა ობიექტურად შეიძლება ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლით. მეორეს მხრივ, ციტო-მორფოლოგიური ცვლილებები ყოველთვის ნეოპლაზიურ პროცესებს არ უკავშირდება. გამომდინარე აქედან შეგვიძლია დავასკნათ, რომ უჯრედში რელევანტური ბიომარკერების ინტეგრაცია აუმჯობესებს ციტოლოგიის დიაგნოსტიკურ შესაძლებლობას. აღნიშნული მიგნება, სხვა ფაქტორებთან ერთად, შესაძლოა იყოს ახსნა, თუ რატომ შეიძლება განმეორებითი ციტოლოგიური სკრინინგისას იყოს LSIL ან ASC-US-ის მაღალი შედეგები ან სპეციალისტებს შორის აზრთა სხვაობა, მაშინ როცა ბიოფსიური მასალის შეფასებისას SIL არ დასტურდება.

ჩვენი კვლევის შედეგები, სხვა ავტორების მგავსი ტიპის კვლევების შედარებით მცირე ნიმუშის ზომის და შემთხვევათა რაოდენობის მიუხედავად, შესაძლოა საფუძვლად დაედოს საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ეტიოპათოგენეზის და იმუნოფენოტიპის გათვალისწინებით არსებული კლასიფიკაციის დახვეწას (ცხრილი N14), ასევე სკრინინგის გაიდლაინში პაციენტის მართვის ალგორითმის ცვლილებას (დიაგრამა N11), რაც ვფიქრობთ რომ გააუმჯობესებს ციტოლოგიური სკრინინგის გამოსავლებს, განსაკუთრებით პაპ ტესტით ASC/LSIL კატეგორიის ტრიაჟის დროს.

ეტოპათოგენეზი	HR-HPVინფექცია		პერისტული HR-HPVინფექციით გამოწვეული უჯრედული დისრეგულაცია	ინვაზიური კარცინომა
პაპ ციტოლოგია	NILM	ASC/LSIL	HSIL	ინვაზიური კარცინომა
p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმა	p16/Ki-67DS უარყოფითი		p16/Ki-67DS დადებითი	ინვაზიური კარცინომა
H&E ჰისტოპათოლოგია	N	LSIL (CIN 1)	HSIL (CIN 2+)	ინვაზიური კარცინომა
P16 იმუნოჰისტოქიმა	p16 IHC უარყოფითი		p16 IHC დადებითი	ინვაზიური კარცინომა

ცხრილი N14.

საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიკაცია ეტოპათოგენეზის და მორფოლოგიურ/იმუნოფენოტიკური მახასიათებლების გათვალისწინებით



დიაგრამა N11.

p16 და Ki-67 ბიომარკერების გამოყენებით საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მართვის შესაძლო ალგორითმი

ჩვენი კვლევების შედეგებზე დაყრდნობით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას, მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოსაჩენად, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ მასალაში p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის დიაგნოსტიკური ღირებულება მნიშვნელოვანად მაღალია ციტოლოგიურ სკრინინგთან შედარებით. საშვილოსნოს ყელის კიბოს არსებულმა სკრინინგმა მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანა კიბოს პრევენციაში, თუმცა პაპ ტესტის დაბალი სენსიტიურობა, არსებული ციტო-ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციის სირთულე და ნაკლები შესაბამისობა, ასევე PCR-HPV დაბალი სპეციფიკურობა და HPV ინფექციის მაღალი პრევალირება კვლავ გამოწვევად რჩება როგორც კლინიცისტებისთვის, ასევე პაციენტებისთვის. ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ბიომარკერების ინტეგრაცია შეიძლება იყოს მნიშვნელოვანი ციტოლოგიის დიაგნოსტიკური როლის გაუმჯობესების კუთხით, რათა გადაიჭრას ის სირთულეები, რაც დაკავშირებულია ნეოპლაზური და არანეოპლაზურ პროცესების დიფერენცირებასთან. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგში p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის გამოყენებით შესაძლებელია სკრინინგში ჩართული ქალების კლინიკური მართვის გაუმჯობესება, რაც ერთის მხრივ კიბოსწინარე დაზიანების დროული აღმოჩენით და სათანადო მკურნალობით შეამცირებს კიბოთი გამოწვეულ

ტვირთს, მეორეს მხრივ შეზღუდავს ახალგაზრდა ქალებში საშვილოსნოს ყელზე არასაკმარის ინტერვენციების სიხშირეს და მასთან დაკავშირებულ რეპროდუქციული ჯანმრთელობის პრობლემებს. ერთი ტესტის მაღალი ღირებულების მიუხედავად, p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმია შეიძლება იყოს ეფექტური გრძელვადიან პერსპექტივაში, განსაკუთრებით პაკ ციტოლოგიური სკრინინგით ASC/LSIL კატეგორიების ტრიაჟის დროს. დაბალი შემოსავლის მქონე ქვეყნებში, სადაც სკრინინგი ოპორტუნისტულია და პათომორფოლოგიური დიაგნოსტიკის რეფერალური ცენტრების სიმცირეა, p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიაზე გამოკვლევა შეიძლება ჩაითვალოს ციტოლოგიური სკრინინგის ხარისხის კონტროლის ინსტრუმენტად.

დასკვნები

1. ქართულ პოპულაციაში, საშვილოსნოს ყელის SIL და ASC დიაგნოზის მქონე ქალების განმეორებითი სკრინინგისას, ცერვიკალური ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის ორმაგი შეღებვის იმუნოციტოქიმიური მეთოდით p16 და Ki-67 უჯრედული ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლით, შეღებვის შემდეგი კატეგორიები გამოვლინდა: 1) p16 დადებითი, 2) Ki-67 დადებითი, 3) ცალ-ცალკე p16 დადებითი და Ki-67 დადებითი, 4) p16/Ki-67 ორმაგი დადებითი და 5) p16 და/ან Ki-67 უარყოფითი. მათგან ყველაზე ხშირი p16 და/ან Ki-67 უარყოფითი, ხოლო ყველაზე იშვიათი Ki-67 დადებითი შეღებვის კატეგორიები იყო. პარალელურად, ქალების ამავე ჯგუფში ცერვიკალური ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის პაპ ტესტის შედეგების მიხედვით, ბეტეზდა სისტემის კლასიფიკაციის შემდეგი კატეგორიები გამოვლინდა: NILM, LSIL, HSIL, ASC-US(H); მათგან ყველაზე ხშირი LSIL, ხოლო ყველაზე იშვიათი ASC-H კატეგორია იყო; ქალების ამავე ჯგუფის ცერვიკალური ბიოფსიური მასალის ჰისტოპათოლოგიური შედეგის (საკონტროლო ჯგუფი) მიხედვით N, LISL და HSIL (WHO კლასიფიკაცია) კატეგორიები გამოვლინდა, (N, CIN1 და CIN2+ Koss კლასიფიკაციით, შესაბამისად), მათგან ყველაზე ხშირი HSIL(CIN2+) კატეგორია იყო.

2. ორმაგი შეღებვის იმუნოციტოქიმიური მეთოდით შესწავლილი p16 და Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის მახასიათებლების ანალიზი აჩვენებს, რომ ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში, განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიური მახასიათებლისა, ერთდროულად ორმაგი ბიომარკერების p16/Ki-67 ექსპრესია სტატისტიკურად სარწმუნოა საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების (მაღალი ხარისხის ინტრაეპითელური დაზიანების) აღმოსაჩენად, დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად ცერვიქსის ბიოფსიური მასალის ჰისტოპათოლოგიური შედეგების გათვალისწინებით.

3. ცერვიკალური ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის ეპითელურ უჯრედებში p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ერთდროული ექსპრესიისას ვლინდება კიბოსწინარე დაზიანების აღმოჩენის მნიშვნელოვნად გაუმჯობესებული მგრძნობელობა, სიზუსტე (Accuracy) და სპეციალიტებს შორის შეფასებისას ნაკლები ვარიაბელობა, ვაპ ტესტის შედეგების ანალოგიურ მახასიათებლებთან შედარებით.

4. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკინინგისას ქალის ასაკი არ ახდენს გავლენას p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიაზე, თუმცა p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესია 40 წელზე ზემოთ ასაკის ქალებში უფრო ხშირია.

5. ორმაგი იმუნოციტომელებვისას, ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის ეპითელურ უჯრედებში ცალ-ცალკე p16 და/ან Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესია არ ახდენს გავლენას უჯრედული ატიპიის არსებობაზე (ბიომარკერების ექსპრესია vs უჯრედის მორფოლოგია).

6. ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ანთებითი ინფილტრატების არსებობა არ ახდენს გავლენას ეპითელურ უჯრედებში p16 და/ან Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიაზე (ბიომარკერების ექსპრესია vs ანთებითი ინფილტრაცია).

7. ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის მიხედვით p16/Ki-67 DS უარყოფითი შედეგების მქონე ქალების საშვილოსნოს ციტომორფოლოგიურ შედეგებზე გრძელვადიანი დაკვირვებით, არც ერთ შემთხვევაში არ გამოვლინდა SIL/ASC ციტოპათოლოგიური შედეგი საშუალოდ 6,5 წლის განმავლობაში.

8. საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ დიაგნოსტიკურ მასალაში p16/Ki-67 ბიომარკერების ინტეგრაცია ავსებს მოლეკულურ ბიოლოგიასა და უჯრედულ მორფოლოგიას შორის ნაპრაღს და აუმჯობესებს ციტოპათოლოგიის დიაგნოსტიკურ ღირებულებას.

პრაქტიკული რეკომენდაციები

დარგის ექსპერტებისთვის:

ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16 და Ki-67 ბიომარკერების ინტეგრაციით ვლინდება საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ციტო-ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციის და საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის და მართვის გაიდლაინის (გზამკვლევის) რეკომენდაციების დახვეწის შესაძლებლობა.

კლინიკური პათოლოგიის სპეციალისტებისთვის:

საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16 /Ki-67 ბიომარკერების ინტეგრაცია აუმჯობესებს მაღალი ხარისხის დისლაზიის ობიექტურად აღმოჩენის და კიბოსწინარე და არადისპლაზიური ციტოპათოლოგიების ობიექტურად დიფერენცირების შესაძლებლობას.

კლინიცისტებისთვის:

სკრინინგ-პოპულაციაში, განსაკუთრებით ASC-US/LSIL ჯგუფში, მაღალი ხარისხის დისპლაზიის იდენტიფიცირება წარმოადგენს უმნიშვნელოვანეს საკითხს, რაც სკრინინგის კლინიკური და ეკონომიური გამოსავლების ეფექტურობას განსაზღვრავს, ამიტომ p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის მაჩვენებლის, როგორც მაღალი ხარისხის კიბოსწინარე დაზიანების ინდიკატორის გათვალისწინება, გინეკოლოგებს

დაეხმარება ეფექტური გადაწყვეტილებების მიღებაში კლინიკური მართვის დროს.

სკრინინგში ჩართული ქალებისთვის:

საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას ცერვიკალური ნაცხის იმუნოციტოქიმიური p16/Ki-67 DS გამოკვლევა, შეამცირებს პაციენტისთვის პაპ ციტოლოგიის მიხედვით განმორებით დამაბნეველი შედეგებით (ASC, LSIL) გამოწვეულ სტრესს და არა საჭირო სამედიცინო ჩარევებს, მეორეს მხრივ გაზრდის სკრინინგის მიმართ ნდობას და სკრინინგში ჩართული ქალების რაოდენობას, რაც თავის მხრივ ხელს შეუწყობს კიბოსწინარე დაზიანების დროულ გამოვლენას და კიბოთი გაწვეული ზიანის შემცირებას.

ქვეყანაში ჯანდაცვის სისტემის ორგანიზატორებისთვის:

პათომორფოლოგიური რეფერალური ცენტრების არარსებობის და ლაბორატორიებს შორის პათომორფოლოგიის შედეგების ინფორმაციის გაცვლის დეფიციტის პირობებში, განსაკუთრებით საშვილოსნოს ყელის სკრინინგისას ორაზროვან შემთხვევებთან დაკავშირებული პრობლემის არსებობის შემთხვევაში, ხარისხის კონტროლის უზრუნველყოფის ინსტრუმენტად მხარდაჭერილი უნდა იყოს ბიომარკერებზე დაფუძნებული დიაგნოსტიკური შესაძლებლობის გამოყენება.

მკვლევარებისთვის:

ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში დისპლაზიურ ცვლილებებთან დაკავშირებული ფუნდამენტური ცოდნის გაღრმავება ხელს შეუწყობს მაღალი ხარისხის დისპლაზიური დაზიანებებიდან ინვაზიური კარცინომის განვითარების მოლეკულური მექანიზმების შესახებ ახალი კვლევების დაგეგმვას და განხორციელებას.

სადისერტაციო თემის ორგვლივ გამოქვეყნებული
სამეცნიერო სტატიები:

1. S. Kakaliashvili, Kharzeishvili, G, Didava, T.Saluqvadze, I.Getzadze, N.Lomtadze. „p16/Ki-67 double staining results in women with different types of dysplasia Based on pap-test results in Georgia“ Actual Topics on Women Health, 2012 vol. 1; p.65-69.
2. Sopio Kakaliashvili-Dzagnidze, Omar Khardzeishvili, Giorgi Didava. "Expression of p16/Ki-67 biomarkers during atypical Pap test results." First SYSSA Conference. Tbilisi. Georgia. 2013, p. 4-7.
3. S. Kakaliashvili-Dzagnidze, A. Dzagnidze. “Prevalence of HPV infection among Woman Enrolled in Cervical cancer screening in Georgia”. GAU International Scientific Conference. Georgian American University Annual Scientific Journal. 2022, p.90-94.
4. Sopio Kakaliashvili-Dzagnidze, Omar Khardzeishvili, Sergo Tabagari. “The role of dual p16^{INK4a}/ Ki-67 biomarkers integration in cytology”. Journal of the Georgian Critical Care Medicine Institute, Georgian Academy of Medical Sciences, Georgian Association of Catastrophe & Critical Care Medicine, N7, 2023.
5. Kakaliashvili-Dzagnidze S, Khardzeishvili O, Tabagari S. Diagnostic Accuracy of p16 INK4a/Ki-67 Dual Immunostaining for Detection of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women Involved in Cervical Cancer Screening in Georgia. Analytical Cellular Pathology. 2023 Jun 5; 2023.

6. Kakaliashvili-Dzagnidze S. The role of the morphologic categorization of p16INK4a/Ki-67 dual stained cytology in detecting of high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+). Translational and Clinical Medicine-Georgian Medical Journal. 2023 Dec 21;8(2).