

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 კიბოსწინა დაზიანების
ბამოვლენაში**

მედიცინის დოქტორის აკადემიური

ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

პროფესორი ომარ ხარბეიშვილი

პროფესორი სერგო თაბაგარი

თბილისი, 2024 წელი

ჩემი ნაშრომი ეძღვნება ყველა იმ ქალს, ვისაც საშვილოსნოს ყელზე არასაჭირო ინტერვენცია ჩაუტარდა, ვინაიდან წინამდებარე ნაშრომის შექმნის მოტივაცია სწორედ მათ მომცეს.

პირველ რიგში მინდა მადლიერება გამოვხატო დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის მიმართ, რომელმაც მომცა შესაძლებლობა, რომ შემესრულებინა წინამდებარე ნაშრომი.

მინდა გამოვხატო მადლიერება ჩემი ხელმძღვანელების, ღვაწლმოსილი პროფესორების, ომარ ხარბეიშვილის და სერგო თაბაგარის მიმართ, კვლევის განხორციელებისას სირთულეების გადასალახად და დასახული მიზნების მისაღწევად გაწეული მხარდაჭერისათვის.

უზომოდ მადლობელი ვარ ჩემი მშობლების, ჩემი აღზრდისა და რთულ პერიოდში საუკეთესო განათლების მიღების შესაძლებლობისთვის.

მადლიერების ნიშნად ჩემს ნაშრომს დიდი სიყვარულით ვუძღვნი ჩემს მეუღლეს და შვილებს, მარიამს და ანას, ნაშრომზე მუშაობის დროს განსაკუთრებული ერთგულებისა და თანადგომისათვის.

სარჩევი

შესავალი

პრობლემის აქტუალობა.....	13
კვლევის მიზანი.....	16
კვლევის ამოცანები	16
ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე.....	17
ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული ღირებულება.....	19
თავი I. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა	
1.1. საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების მიმოხილვა, კლასიფიკაციის ეტაპობრივი განვითარება, ეტიოპათოგენები.....	20
1.2. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგი და სკრინინგის გამოწვევები	32
1.3. საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანებისთვის დამახასიათებელი პოტენციური უჯრედული ბიომარკერები	40
თავი II. კვლევის მასალა და მეთოდები	
2.1. საკვლევი მასალა	44
2.2. სლაიდების მომზადება და ორმაგი იმუნოციტოქიმიური შეღებვის მეთოდოლოგია.....	46
თავი III. საკუთარი კვლევის შედეგები	
3.1. იმუნოშეღებვის შედეგები და მათი კატეგორიზაცია.....	49
3.2. კვლევის შედეგების სტატისტიკური ანალიზი	54
თავი IV. საკუთარი კვლევის შედეგების განსჯა	71
დასკვნები.....	83
პრაქტიკული რეკომენდაციები	85
ბიბლიოგრაფია	87
დანართები.....	95

სადისერტაციო თემის ირგვლივ გამოქვეყნებული პუბლიკაციების ნუსხა:

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. სოფიო კაკალიაშვილი-ძაგნიძე, ომარ ხარძეიშვილი, გიორგი დიდავა. „p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესია ატიპური პაპ ტესტის შედეგების დროს.“ First SYSSA Conference. D. Tvildiani Medical University Press; 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).

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 წ.
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 Better Future Today with Science’, თბილისი, საქართველო. 2022.
9. 2nd International Conference on Global Advanced Nursing and Healthcare August 11-12, 2023 | London, UK. (virtual)
10. TMA International Scientific Conference - Medicine: Innovations and Challenges 2023, (Conference has been accredited by EACCME). თბილისი, საქართველო. 30.11.2023

თემაზე მუშაობის პერიოდში ჩატარებული აქტივობები:

1. p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიური მეთოდოლოგიის შესწავლა, სერტიფიცი-რებული სპეციალისტი, 2011 mtm Laboratories AG, Heidelberg, Germany.
2. 2011-2013 წლებში ორმაგი იმუნოციტოქიმიური მეთოდოლოგიის დანერგვა პირველად საქართველოში შემდეგ სამედიცინო ცენტრებში: 1) კლინიკა მედიკლაბ 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 წ.
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 *p16/ki-67 Dual Stain*” ფარგლებში p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიის გამოყენების რეკომენდაციების განხილვაში მონაწილეობა; June1,2023.

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

სურათები

- სურათი N1. AIM ატიპური უმწიფარი მეტაპლაზია ა) H&E ჰისტოპათოლოგია; ბ) p16 IHC უარყოფითი
- სურათი N2. HSIL მეტაპლაზიის ფენოტიპით ა) H&E ჰისტოპათოლოგია; ბ) p16 IHC დადებითი
- სურათი N3. ა. HSIL ატიპური კერატინიზებული უჯრედი ჰიპერქრომული ბირთვით.
ბ. HSIL-ის მსგავსი რეაქციული რეპარაციული ცვლილებები
- სურათი N4. პაპილომავირუსის ელექტრონული მიკროგრაფი
- სურათი N5. HR-HPV ინფექციისას ვირუსული ცილა E7-ით გამოწვეული უჯრედული p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია და უჯრედის ციკლის ცვლილება
- სურათი N6. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას რისკის შეფასების ალგორითმი
- სურათი N7. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას რისკის გამოთვლის და მეთვალყურეობის ალგორითმი
- სურათი N8. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება
- სურათი N9. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიით. x 100 გადიდება
- სურათი N10. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება
- სურათი N11. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, უჯრედული ატიპიის გარეშე. x 100 გადიდება
- სურათი N12. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიის გარეშე. x 400 გადიდება
- სურათი N13. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, p16 შეღებვა უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება
- სურათი N14. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, Ki-67 შეღებვა უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება
- სურათი N15. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვით. x 100 გადიდება
- სურათი N16. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება
- სურათი N17. p16 IHC დადებითი. x 100 გადიდება
- სურათი N18. p16 IHC უარყოფითი. x 100 გადიდება

ცხრილები

- ცხრილი N1.** საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების არსებული კლასიფიკაცია
პათომორფოლოგიური და იმუნოფენოტიპური მახასიათებლების მიხედვით
- ცხრილი N2.** საშვილოსნოს ყელის ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელური დაზიანების
ბუნებრივად განვითარების გზა, საშუალოდ 2-წლიანი დაკვირვების
პერიოდით
- ცხრილი N3.** ანოგენიტალურ მიდამოში გავრცელებული ძირითადი HPV გენოტიპები
- ცხრილი N4.** რუტინული სკრინინგის და სკრინინგის შედეგების მიხედვით მართვის
რეკომენდაციები, ASC & ASCCP
- ცხრილი N5.** განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67 DS
დადებითი იმუნოციტოქიმიის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგები
- ცხრილი N6.** p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა,
სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy)
- ცხრილი N7.** H&E ჰისტოპათოლოგიის და უჯრედული ატიპიით/ატიპიის გარეშე
p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგების დისტრიბუცია
- ცხრილი N8.** H&E ჰისტოპათოლოგიის და იმუნომულებვის შედეგების განაწილება
ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში
- ცხრილი N9.** p16/Ki-67DS უარყოფითი იმუნოციტოქიმიის შედეგების მქონე ქალებში
სკრინინგის გრძელვადიანი დაკვირვების (3-10 წელი) შედეგები
- ცხრილი N10.** ცერვიკალური ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის p16/Ki-67 DS
იმუნოციტოქიმიის და პაპ ტესტის შედეგების განაწილება
- ცხრილი N11.** პაპ ტესტის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება
- ცხრილი N12.** p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და პაპ ტესტის შედეგების Cohen's kappa
(κ) ანალიზი
- ცხრილი N13.** p16/Ki-67 DS, HPV PCR, პაპ ტესტის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების
დისტრიბუცია
- ცხრილი N14.** CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა, სპეციფიკურობა, PPV და NPV სხვადასხვა
კვლევების მიხედვით
- ცხრილი N15.** საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიკაცია
ეტიოპათოგენეზის და მორფოლოგიურ/იმუნოფენოტიპური
მახასიათებლების გათვალისწინებით

დიაგრამები

- დიაგრამა N1.** ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის იმუნოციტოქიმიით შეღებვისას p16/Ki-67 DS დადებითი და p16/Ki-67 DS უარყოფითი შედეგების სიხშირე
- დიაგრამა N2.** ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიები
- დიაგრამა N3.** H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება
- დიაგრამა N4.** განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგებისას H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების პროცენტული განაწილება
- დიაგრამა N5.** p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიებში უჯრედული ატიპიის სიხშირე
- დიაგრამა N6.** ანთებითი ინფილტრატების სიხშირე p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით სხვადასხვა შეღებვის კატეგორიებში
- დიაგრამა N7.** პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგების საერთო სიხშირე
- დიაგრამა N8.** პაპ ტესტის შედეგების განაწილება
- დიაგრამა N9.** პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალებში p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგების სიხშირე
- დიაგრამა N10.** პაპ ტესტით სხვადასხვა დიაგნოზის მქონე ქალების ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიების განაწილება, ა-ე
- დიაგრამა N11.** H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება პაპ ტესტით LSIL შედეგების მქონე ქალებში
- დიაგრამა N12.** H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება პაპ ტესტით ASC-US შედეგების მქონე ქალებში
- დიაგრამა N13.** HR-HPV გენოტიპების პრევალირება
- დიაგრამა N14.** p16 და Ki-67 ბიომარკერების გამოყენებით საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მართვის შესაძლო ალგორითმი

დანართები

- დანართი N1.** განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების ჯვარედინი ტაბულაცია და სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N2.** შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიის გათვალისწინებით p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების ჯვარედინი ტაბულაცია სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N3.** p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგები vs ქალების ასაკი; სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N4.** p16/Ki-67 DS უარყოფითი, p16 შეღებვის კატეგორია vs უჯრედული ატიპია; სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N5.** p16/Ki-67 DS უარყოფითი, Ki-67 შეღებვის კატეგორია vs უჯრედული ატიპია; სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N6.** p16/Ki-67 DS უარყოფითი, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვის კატეგორია vs უჯრედული ატიპია; სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N7.** p16/Ki-67 DS უარყოფითი კატეგორია, p16 შეღებვის კატეგორია vs ანთეზა; სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N8.** p16/Ki-67 DS უარყოფითი, Ki-67 შეღებვის კატეგორია vs ანთეზა; სტატისტიკური ანალიზი
- დანართი N9.** p16/Ki-67 DS უარყოფითი, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვის კატეგორია vs ანთეზა; სტატისტიკური ანალიზი

გამოყენებული აბრევიატურები

- ACOG -მეან-გინეკოლოგთა ამერიკული კოლეჯის კავშირი (American College of Obstetricians and Gynecologists)
- AIS - ადენოკარცინომა ინ სიტუ, ანუ ადგილის კიბო (Adenocarcinoma in situ)
- ASC - ატიპური ბრტყელი ეპითელიოციტები (Atypical Squamous Cells)
- ASC-H – ატიპური ბრტყელი ეპითელიოციტები მაღალი ხარისხის დაზიანების გამორიცხვის შეუძლებლობით (Atypical squamous cells cannot exclude HSIL)
- ASC-US - ატიპური ბრტყელი ეპითელიოციტები განუსაზღვრელი მნიშვნელობის ატიპიით (Atypical squamous cells of undetermined significance)
- ASCCP- ამერიკის კოლპოსკოპიის და საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიების ასოციაცია (The American Society for Colposcopy and Cervical Pathology)
- CAP- ამერიკის პათოლოგთა კოლეჯი(College of American *Pathologists*)
- CIN 1,2,3 – ცერვიქსის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია 1,2,3 ხარისხის (cervical intraepithelial neoplasia grade 1,2,3)
- CIS -ინ სიტუ კარცინომა, ანუ ადგილის კიბო (Carcinoma in situ)
- CDKN2A-ციკლინ დამოკიდებული კინაზა 2A(Cyclin dependent Kinase 2A)
- H&E-ჰემატოქსილინ & ეოზინი (Hematoxylin & Eosin)
- HPV - ადამიანის პაპილომა ვირუსი (Human Papillomavirus)
- HSIL - მაღალი ხარისხის ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელური დაზიანება (High Grade Squamous intraepithelial Lesion)
- IARC -კიბოს კვლევის საერთაშორისო სააგენტო (International Agency for Research on Cancer)
- INK4a-ციკლინ დამოკიდებული კინაზა 4-ის ინჰიბიტორი (Inhibitor of cyclin-dependent kinase 4)
- LEEP - მარყუჟით ელექტოქირურგიული ექსციზიური პროცედურა (Loop electrosurgical excision procedure)
- IHC-იმუნოჰისტოქიმია (Immunohistochemistry)
- LSIL - დაბალი ხარისხის ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელური დაზიანება (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion)
- NILM-უარყოფითი ინტრაეპითელურ დაზიანებასა და ავთვისებიანობაზე (Negative for Intraepithelial Lesion and Malignancy)
- NPV - უარყოფითი პროგნოზული ღირებულება (Negative Predictive Value)
- PAP ტესტი - საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიების ციტოლოგიური დიაგნოსტიკის ტესტი დაფუძნებული პაპანიკოლაუს მეთოდზე

PPV - დადებითი პროგნოზული ღირებულება (Positive Predictive Value)

SCC - ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა (Squamous cell carcinoma)

Scj - საზღვარი ცილინდრულ და ბრტყელ ეპითელიუმს შორის (Squamo-columnar junction)

Se -სენსიტიურობა (Sensitivity)

SGO- გინეკოლოგიური ონკოლოგიის ასოციაცია (Society of Gynecologic Oncology)

SIL -ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელიური დაზიანება (Squamous Intraepithelial Lesion)

Sp -სპეციფიურობა (Specificity)

TBS - ბეტესდას სისტემა საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიების ციტოლოგიური შეფასების სისტემა (კლასიფიკაცია) (The Bethesda System)

TZ - ტრანსფორმაციის ზონა (Transformation Zone)

USPSTF- ამერიკის პრევენციული სერვისების სამუშაო ჯგუფი (The U.S. Preventive Services Task Force)

WHO- მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაცია (World health Organization)

შესავალი

პრობლემის აქტუალურობა

ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის ბოლო მონაცემების მიხედვით, მსოფლიოში საშვილოსნოს ყელის კიბო ავთვისებიან სიმსივნეებს შორის სიხშირით მეოთხე ადგილზეა ქალებში, ახალი შემთხვევების 600 000-ზე მეტი და სიკვდილობის 300 000-ზე მეტი შემთხვევით. მათგან უმეტესობა განვითარებად ქვეყნებზე მოდის (84). ათეულობით წლების მანძილზე საშვილოსნოს ყელის კიბოს პათობიოლოგიის და ქცევის ინტენსიური შესწავლით, ამ დროისთვის ცნობილია, რომ საშვილოსნოს ყელის ავთვისებიანი სიმსივნის ყველაზე გავრცელებულ მორფოლოგიურ ტიპს ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა წარმოადგენს, რომელიც კიბოსწინარე დაზიანებისგან ვითარდება და ცერვიქსის მრავალშრიანი ბრტყელი ეპითელიუმის ბაზალური შრის უჯრედებში მაღალი რისკის პაპილომა ვირუსის (HR-HPV) პერსისტული ინფექციით გამოწვეულ უჯრედული ციკლის მოშლას უკავშირდება (96). კიბოსწინარე დაზიანებების ადრეული გამოვლენით შესაძლებელია კიბოთი გამოწვეული ავადობის და სიკვდილობის შემცირება. მიუხედავად იმისა, რომ პაპ/HPV ტესტირებაზე დაფუძნებული საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის და HR-HPV საწინააღმდეგო ვაქცინაციის დანერგვით მნიშვნელოვნად შემცირდა კიბოთი გამოწვეული ტვირთი, ჯერ კიდევ მაღალია საშვილოსნოს ყელის კიბოთი გამოწვეული სიკვდილობის მაჩვენებელი. მიღწეული შედეგების მიუხედავად, უცნობია კიბოს განვითარების ზუსტი მოლეკულური მექანიზმები, ხოლო ციტოლოგიური სკრინინგისას არცთუ იშვიათია დიაგნოსტიკის სირთულე. უკანასკნელი საკითხი განსაკუთრებული მნიშვნელობისაა, როცა საქმე ეხება საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის დაბალი ხარისხის დისპლაზიისგან და არადისპლაზიური (მეტაპლაზია, ჰორმონალური დისბალანსით თუ ინფექციებით გამოწვეული ციტოლოგიური ცვლილებები) დაზიანებებისგან დიფერენცირებას. ციტოლოგიურ მასალაში უჯრედის მორფოლოგიური ცვლილების შეფასება სუბიექტურია და ერთსა და იმავე მასალაზე დაკვირებისას სპეციალისტების შეფასების შედეგები შესაძლოა განსხვავებული იყოს. სხვადასხვა კვლევების მიხედვით, პაპ ტესტის დაბალი მგრძნობელობის და სუბიექტური ხასიათის გათვალისწინებით, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური სკრინინგის სისუსტე, ერთის მხრივ, ფარულად მიმდინარე

კიბოსწინარე დაზიანების დროულად გამოვლენის შესაძლებლობას, მეორეს მხრივ, ციტოლოგიური დიაგნოსტიკისას განმეორებითი SIL (Squamous Intraepithelial Lesion) და ASC (Atypical Squamous Cells) კატეგორიების მაღალ სიხშირეს უკავშირდება, რაც თავის მხრივ უარყოფით გავლენას ახდენს ახალგაზრდა ქალის ცხოვრების ხარისხზე და რეპროდუქციულ ჯანმრთელობაზე (4,27). სკრინინგით დაფარვის მასშტაბის სიმცირის გარდა, რაც განსაკუთრებულ პრობლემას განვითარებადი ქვეყნებისთვის წარმოადგენს, უჯრედის მორფოლოგიაზე დაფუძნებული პაპ ტესტის დაბალი მგრძნობელობის, მორფოლოგიური დიაგნოსტიკის სუბიექტურობის, ცერვიკალური კიბოსწინარე დაზიანების არსებული ციტო-ჰისტოპათოლოგიური კლასიფიკაციის სირთულის და ნაკლები შესაბამისობის, აგრეთვე HPV ინფექციის მაღალი პრევალირების და HPV ტესტირების დაბალი სპეციფიურობის გამო, საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგი კვლავ გამოწვევების წინაშე დგას (72). მიღწეული შედეგების მიუხედავად, ჯერ კიდევ დახვეწას საჭიროებს საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მდგრადი გზამკვლევი (გაიდლაინი). პასუხგაუცემელია კითხვები: შესაძლებელია თუ არა ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ობიექტურად, ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლით, ციტოლოგიური დიაგნოსტიკის მგრძნობელობის გაუმჯობესება და კიბოსწინარე დაზიანების ადრეული აღმოჩენა, შესაძლებელია თუ არა იმუნოციტოქიმიის გამოყენებით ციტო-ჰისტოპათოლოგიური კლასიფიკაციის დახვეწა.

ტექნოლოგიების განვითარებით შესაძლებელი გახდა ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში მოლეკულურ-ბიოქიმიური ცვლილებების შესწავლა. გასული დეკადის დასაწყისიდან სხვადასხვა უჯრედული ბიომარკერების შესწავლა ხდებოდა საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ობიექტურად გამოვლენის მიზნით. ამ კუთხით, ბოლო წლების განმავლობაში, სხვადასხვა ავტორის მიერ იქნა შესწავლილი p16^{INK4a} (CDK4 ინჰიბიტორი, შემდგომში p16) და Ki-67 უჯრედული ცილების ექსპრესია (63). ცილა p16, რომლის მაკოდირებელი გენი CDKN2A მოთავსებულია მე-9 ქრომოსომაზე, უჯრედული ციკლის მაინჰიბირებელი ციტოპლაზმური ცილაა. ფიზიოლოგიურად, p16 ცილის ტრანსკრიპცია ინჰიბირდება უჯრედის ციკლის მარეგულირებელი Rb ცილის (მაკოდირებელი გენი Rb, სიმსივნის მასუპრესირებელი გენი მოთავსებულია მე-13 ქრომოსომაზე) მიერ. დადგენილია რომ

ზოგიერთი ავთვისებიანი სიმსივნის დროს, Rb გენის მუტაცია ვლინდება, რაც Rb ცილის დეფიციტით გამოწვეულ p16 ცილის ტრანსკრიპციის გააქტიურებას და უჯრედში მის ჭარბად ექსპრესიას უკავშირდება. საშვილოსნოს ყელის ეპითელიურ უჯრედებში პერსისტული HR-HPV ინფექციისას, ვირუსული ცილა E7 იწვევს უჯრედული Rb/E2F კომპლექსის დაშლას, შედეგად Rb ცილა განიცდის პროტეოსომა-დამოკიდებულ დეგრადაციას. შესაბამისად, პერსისტული HR-HPV ინფექცია უჯრედული ცილის დისრეგულაციას იწვევს Rb ცილის ინაქტივაციით, რასაც p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია მოყვება (89). ცილა Ki-67, რომლის მაკოდირებელი გენი MKI67 მოთავსებულია მე-10 ქრომოსომაზე, უჯრედის პროლიფერაციასთან ასოცირებული ბირთვული ცილაა, აღმოჩენილია მხოლოდ გაყოფად უჯრედებში (G1-, S-, G2- და M-ფაზა) და ითვლება უჯრედის პროლიფერაციის მარკერად (75). სხვადასხვა ავტორების მიერ აღწერილია ციტოლოგიურ თუ ჰისტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალებში p16 და Ki-67 ბიომარკერების სხვადასხვა პატერნის ექსპრესიის არსებობის შესახებ (64), თუმცა საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების აღმოსაჩენად ამ ეტაპზე ჯერ კიდევ არ არის მკაფიო რეკომენდაციები აღნიშნული ბიომარკერების ფართოდ გამოყენების თაობაზე.

საქართველოში საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის პროგრამა 2008 წელს დაიწყო, ხოლო 2011 წლიდან სკრინინგი ფართომასშტაბიანი გახდა მთელი ქვეყნის მოცვით. 2021 წლამდე სკრინინგი ოპორტუნისტული ხასიათის იყო, ახლა კი პოპულაციურია. საქართველოს დაავადებათა კონტროლის ნაციონალური ცენტრის 2020 წლის მონაცემების მიხედვით, ქ.თბილისში საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგით მოცვა 14%, რეგიონებში კი 9%-ია. რისკ ჯგუფების HPV საწინააღმდეგო ვაქცინაცია უზრუნველყოფილია 2019 წლიდან ეროვნული ვაქცინაციის სახელმწიფო პროგრამით. ვაქცინის ბოლო დოზით მოცვა გოგონებში 22% შეადგენს (WHO Cervical cancer country profile. 2021). საქართველოში კიბოს რეგისტრის მონაცემებით, საშვილოსნოს ყელის კიბოს ახალი შემთხვევების დიაგნოსტიკა დაავადების I და II სტადიაზე მერყეობს 52%-დან 55%-მდე. საშვილოსნოს ყელის კიბოს ინციდენტობა საქართველოში აღემატება ევროპის რეგიონის და დსთ-ის ქვეყნების საშუალო მაჩვენებელს (საშვილოსნოს ყელის კიბოს ასაკ-სპეციფიური ინციდენტობა, საქართველო, 2015-2017). ციტოლოგიური სკრინინგის შედეგების შეტყობინების

ვალდებულების არარსებობის პირობებში, ამ დრომდე მწირია ეროვნულ დონეზე საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის შედეგების შესახებ საჯარო ინფორმაცია, ხოლო პაპ ტესტის შედეგების პარალელურად ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ბიომარკერების ექსპრესიაზე კვლევა ჯერ არ განხორციელებულა. აქედან გამომდინარე, გადაწყვეტეთ, სკრინინგისას განმეორებითი ციტოპათოლოგიური შედეგების მქონე ქალებში შეგვესწავლა ორი ბიომარკერის p16/Ki-67 ექსპრესიის თავისებურებები. აღნიშნული მიმართულების კვლევები სამეცნიერო და პრაქტიკული გამოყენების თვალსაზრისით უაღრესად ღირებულია, ავსებს სკრინინგისას პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალებში p16/Ki-67 ბიომარკერების პროგნოზული მნიშვნელობის შესახებ ნაპრაღს და ასაბუთებს კიბოსწინარე დაზიანების იმუნო-ციტოპათოლოგიურ საფუძველს.

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 მახასიათებლებების 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

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 და HPV ტესტირების დაბალი სპეციფიკურობის გამო, განსაკუთრებით იმ ქვეყნებში სადაც სკრინინგით მოცვა დაბალია და სკრინინგული მასალის რეფერალის შესაძლებლობა შეზღუდულია საქართველოს მსგავსად, ახალგაზრდა რეპროდუქციული ასაკის ქალებში სკრინინგისას განმეორებითი პათოლოგიური (LSIL/ASC-US) შედეგების შემთხვევაში არცთუ იშვიათია საშვილოსნოს ყელზე არასაჭირო ინსტრუმენტული ჩარევა, მეორეს

მხრივ, ფარული კიბოსწინარე დაზიანების არასათანადო შეფასების გამო მაღალია ინვაზიური კიბოს განვითარების რისკი. საქართველოში ამ დრომდე არ განხორციელებულა ოპორტუნისტულ სკრინინგში ჩართული ქალების საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური 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 მგრძობელობის 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 თვისებურებების 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.

თავი I

სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების მიმოხილვა, კლასიფიკაციის ეტაპობრივი განვითარება, ეტიოპათოგენები

საშვილოსნოს ყელის ავთვისებიან სიმსივნეებს შორის მორფოლოგიური ტიპის მიხედვით ყველაზე ხშირად გავრცელებული ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომის კიბოსწინარე დაზიანების პათობიოლოგიის და ქცევის ინტენსიური შესწავლა ეტაპობრივად ხდებოდა ბოლო ხუთი ათეული წლის განმავლობაში. შესაბამისად, ამ ხანგრძლივ პერიოდში რამდენჯერმე შეიცვალა კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიკაციის ტერმინოლოგია. საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების უჯრედები ჯერ კიდევ გასულ საუკუნეში იქნა აღმოჩენილი. 1886 წელს ჯონ ვილიამსმა დააფიქსირა საშვილოსნოს ყელში ინვაზიურ კიბოსთან ახლოს მდებარე არაინვაზიური უჯრედების არსებობა (92). ამ ტიპის არაინვაზიური უჯრედების მორფოლოგია უფრო უკეთ იქნა შესწავლილი გულენის მიერ 1900 წელს. მისი შეფასებით ჰისტოლოგიურად ინტრაეპითელური დაზიანება გავდა გვერდით მდებარე ინვაზიურ კიბოს უჯრედებს (16). მოგვიანებით 2012 წელს, მეცნიერმა ჰერფსმა და კოლეგებმა დაადგინეს, რომ საშვილოსნოს ყელის ბრტყელუჯრედოვანი კიბოსწინა დაზიანება და კიბოს განვითარება იწყება საშვილოსნოს ყელის ახლადწარმოქმნილ ანუ ფუნქციონალურ ბრტყელ და ცილინდრული ეპითელიუმის საზღვარზე (SCJ) არსებული კუბოიდური უჯრედებისგან (SC Junctional cells), რომლებიც იმუნოფენოტიპურად განსხვავდებიან ბრტყელუჯრედოვანი და ცილინდრული უჯრედებისგან (28).

ტერმინი ინ სიტუ კარცინომა (CIS) პირველად მეცნიერებმა Schottlander-მა და Kermauner-მა გამოიყენეს 1900 წელს, ხოლო საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური დაზიანების აღწერისთვის ეს ტერმინი პირველად მეცნიერმა Broders-მა გამოიყენა 1930 წელს (1). CIS და ინვაზიურ კარცინომას შორის დამოკიდებულება აღწერილი იქნა Pemberton და კოლეგების კვლევაში, სადაც აღწერილია საშვილოსნოს ყელის CIS არსებობა რამდენიმე ქალში, ვიდრე მათ ინვაზიური კარცინომა განუვითარდებოდთ (56). აღნიშნულ კვლევებზე დაყრდნობით შეიქმნა ჰიპოთეზა, რომ ინვაზიური კიბო ვითარდება განსაზღვრული ჰისტოლოგიური ტიპის კიბოსწინარე დაზიანებისგან (49), საგულისხმოა, რომ აღნიშნული ჰიპოთეზა შესწავლილი იქნა სხვადასხვა მეცნიერის

მიერ მრავალჯერ და ნათლად გამოვლინდა, რომ CIS მქონე პაციენტების გარკვეულ ნაწილს, რომელთაც მკურნალობა არ უტარდებოდათ, მოგვიანებით უვითარდებოდათ ინვაზიური კიბო (42).

ციტოლოგიაზე დაფუძნებული საშვილოსნოს ყელის სკრინინგ-პროგრამის დანერგვის შემდეგ აღმოჩნდა, რომ ქალების უმრავლესობას აქვს საშვილოსნოს ყელის ეპითელიუმის ისეთი ცვლილებები, რაც ციტოლოგიურად და ჰისტოლოგიურად CIS - სთვის არ არის დამახასიათებელი. აღნიშნული ცვლილებების შესაფასებლად გამოიყენებოდა ტერმინები „ანაპლაზია“, „ბაზალური უჯრედების ჰიპერპლაზია“, „ატიპური ჰიპერპლაზია“ და ბოლოს „დისპლაზია“. ტერმინი „დისპლაზია“ ფართოდ გამოიყენება პათოლოგიური პროცესების შეფასებისას, მისთვის დამახასიათებელია ატიპური უჯრედების არსებობა, თუმცა გავრცელება არ ხდება მთელს ეპითელიურ შრეში და არ ვლინდება ბაზალური მემბრანის ინვაზია (94). ციტოლოგიურ ნომენკლატურაში დისპლაზია მიჩნეული იყო კეთილთვისებიან ან შესაძლო ბრტყელ ეპითელიურ ატიპიად. ხოლო CIS განიხილებოდა როგორც ავთვისებიანი უჯრედების არსებობა. შესაბამისად, არაინვაზიურ დაზიანებებში გაერთიანებული იყო ბიოლოგიურად განსხვავებული მდგომარეობები, როგორცაა დისპლაზია და ინ სიტუ კარცინომა. კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიკაცია დისპლაზიად და CIS -ად დაფუძნებული იყო წარმოსახვითი ჰისტოლოგიური განსხვავების არსებობაზე, რაც ხშირ შემთხვევაში არ იყო მკაფიო. გასული საუკუნის 60-იან წლებში, საშვილოსნოს ყელის ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოსტიკებისას ინტერ- და ინტრაობსერვაციული ვარიაბელობის მაღალი მაჩვენებლის არსებობამ გამოვლინა, რომ პათოლოგები დისპლაზიისა და CIS-ის დიფერენცირებისას პრობლემას აწყდებიან. რიგი კვლევების მიხედვით, დისპლაზიასა და CIS-ს შორის უჯრედების თვისობრივი ცვლილებები ერთნაირი იყო და რჩებოდა უცვლელი მთელს ჰისტოლოგიურ სპექტრში. დისპლაზიის, ასევე CIS-ის შემთხვევაში დადგინდა ეუპლოიდური ბირთვული დნმ-ის მქონე მონოკლონური პათოლოგიური უჯრედების პროლიფერაციის არსებობა (14, 42). აღნიშნული კვლევების საფუძველზე მეცნიერმა რიჩარტმა წარმოადგინა მოსაზრება, რომ ყველა ტიპის საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანება რომელიც ინვაზიურ კარცინომას იწვევს, წარმოადგენს ერთ დაავადებას, რასაც მან საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზია (Cervical Intraepithelial Neoplazia- CIN) უწოდა (65). CIN

ტერმინოლოგიის შემოღების შემდეგ კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიცირება მოხდა სამ ჯგუფად. CIN 1 შეესაბამებოდა დაბალი ხარისხის დისპლაზიას, CIN 2 საშუალო ხარისხის დისპლაზიას, CIN 3 მაღალი ხარისხის დისპლაზიას და ინ სიტუ კარცინომას - ადგილის კიბოს (იხ. ცხრილი N1). ინტრაეპითელური დაზიანების ტერმინის შემოღებისას, საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე პათოლოგია განიხილებოდა როგორც ჰისტოლოგიური ცვლილებების სპექტრი, რომელთაც ჰქონდათ საერთო ეტიოლოგია, ბიოლოგიური თავისებურებები და განვითარების ისტორია. ხოლო დიაგნოსტიკური კუთხით, იგულისხმებოდა დაზიანება, რომელიც სათანადო მკურნალობის გარეშე, ინდივიდუალურ დონეზე უცნობი მექანიზმით, წარმოადენდა ინვაზიური კიბოს განვითარების რისკს (94).

CIN ტერმინოლოგია ფართოდ გამოიყენებოდა როგორც საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ჰისტოპათოლოგიური შეფასებისას გასული საუკუნის 70-იან 80-იან წლებში. ბოლო 30 წლის განმავლობაში დიდი ინფორმაციული აფეთქება მოხდა საშვილოსნოს ყელის კიბოს ეტიოლოგიასა და კიბოსწინარე დაზიანების ირგვლივ. 1950 წელს მეცნიერებმა კოსმა და დურფემ პირველებმა აღწერეს საშვილოსნოს ყელის ეპითელური უჯრედები ბირთვის გარშემო ციტოპლაზმის განსხვავებული მახასიათებლით (41). ამ ცვლილებებს მათ „კოილოციტოზი“ უწოდეს, რაც ბერძნულიდან ცარიელ სივრცეს ნიშნავს. ოცი წლის მოგვიანებით, მეცნიერებმა მისიელმა და ფორტინმა „კოილოციტოზური“ ცვლილებები დაუკავშირეს HPV ინფექციას, რაც საშვილოსნოს ყელის დაბალი ხარისხის დისპლაზიის დროს ვლინდება (49).

დღეს, მტკიცებულებებზე დაყრდნობით დადასტურებულია, რომ საშვილოსნოს ყელის ბრტყელუჯრედოვანი ინვაზიური კარცინომა და ადენოკარცინომა, ასევე მათი შესაბამისი პრეკურსორული დაზიანებები გამოწვეულია ანოგენიტალური ტრაქტის მაღალი რისკის (HR) HPV პერსისტული ინფექციით (96, 97). HR-HPV ინფექციით საშვილოსნოს ყელის კიბოს კარცინოგენეზის ახალი მოდელი შემუშავდა, რაც მოიცავდა სამ ეტაპს: 1) საწყისი HR-HPV ინფექცია, 2) პერსისტული ინფიცირებით გამოწვეული პროგრესირება და ჰისტოლოგიურად გამოვლენილი კიბოსწინარე დაზიანება 3) ინვაზია (18, 93). აღნიშნული ბიოლოგიური მოდელით ცხადია ვერ დასტურდებოდა კიბოს ზუსტად ეტაპობივად და კანონზომიერად განვითარება.

უფრო მეტიც, ჩანდა რომ CIN ტერმინოლოგიის ძირითადი საფუძველი არასწორი იყო. ჰისტოლოგიური ცვლილებების სპექტრი რომელიც განისაზღვრებოდა როგორც CIN, მეცნიერთა ჯგუფის მოსაზრებით არ წარმოადგენდა ერთი დაავადების განვითარების სხვადასხვა ეტაპს, არამედ წარმოადგენდა ორ სხვადასხვა ბიოლოგიურ მდგომარეობას, რაც ერთის მხრივ ვირუსული ინფექციით გამოწვეული ცვლილება, მეორეს მხრივ კი ეპითელიუმის ნეოპლაზიური ცვლილება იყო.

კვლევებით დადგინდა, რომ საშვილოსნოს ყელის ბრტყელი ეპითელიუმის HPV ინფექცია დაახლოებით 90% შემთხვევაში სპონტანურად ქრება 12-36 კვირის განმავლობაში (9). მას შემდეგ რაც ცნობილი გახდა HPV ინფექციით გამოწვეული უჯრედული ცვლილებები, დადგინდა რომ HPV ინფექცია საშვილოსნოს ყელის ეპითელიუმის ბრტყელი ან ეგზოფიტური სახის დაზიანების განვითარებას იწვევს. ბრტყელი კონდილომის და ეგზოფიტური კონდილომის ჰისტოლოგიური ცვლილებები იგივე აღმოჩნდა, რაც საშვილოსნოს ყელის დაბალი ხარისხის ინტრაეპითელური დაზიანებისას, CIN1-ის დროს ვლინდებოდა (22). ხოლო საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის ინტრაეპითელურ დაზიანებას (CIN2-3) ანეუპლოიდია და ბირთვული ატიპია ახასიათებს და ინვაზიური კარცინომის განვითარების რისკს წარმოადგენს. ეს კატეგორია დისპლაზიის ხარისხის მიხედვით (ბირთვი/ციტოპლაზმის ფარდობა, N/C, გაზრდილია) შეესაბამება საშუალო და მაღალი ხარისხის დისპლაზიას და ინ სიტუ კარცინომას, შესაბამისად (40) (იხ. ცხრილი N1). არსებობდა მოსაზრება, რომ მხოლოდ დაბალი ხარისხის ინტრაეპითელური დაზიანება იყო ვირუსულ ინფექციასთან დაკავშირებული, თუმცა არაერთი კვლევით დადასტურდა, რომ HPV ინფექციის პრევალირება თანაბარია დაბალი და მაღალი ხარისხის დისპლაზიების შემთხვევაში (13).

საშვილოსნოს კიბოსწინარე დაზიანების ტერმინოლოგიის რამდენჯერმე რევიზირების შემდეგ, ამ ეტაპზე საყოველთაოდ გამოიყენება ბეტესდა (TBS) სისტემაზე დაფუძნებული ნომენკლატურა, რომელიც პირველად 1988 წელს შემუშავდა, ხოლო შემდგომში 1991, 2001 და 2014 წლებში მოხდა მისი რევიზირება. ამ კლასიფიკაციის მიხედვით ტერმინი „დაბალი ხარისხის ინტრაეპითელური დაზიანება“ (LSIL) შეესაბამება ძველი კლასიფიკაციით „კოილოციტოზურ“ ატიპიას და ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციით CIN1 დაზიანებას, ხოლო „მაღალი ხარისხის ბრტყელუჯრედოვანი

ინტრაეპითელური დაზიანება“ (HSIL) შეესაბამება ძველი ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციით CIN 2 და CIN 3 დაზიანებას (86). ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ეპითელიუმის ზედაპირული ან შუამდებარე ტიპის უჯრედების არსებობა მიუთითებს LSIL-ის არსებობას. ციტოლოგიურ სლაიდზე LSIL-ის დროს ვლინდება ინდივიდუალურად, შრეებად ან გროვებად ზედაპირული ან შუამდებარე ტიპის უჯრედები, მკაფიოდ გამოხატული უჯრედის კონტურით, უხვი ციტოპლაზმით, ჩვეულებრივ საშუალო ზომის უჯრედის ბირთვზე 2-3-ჯერ უფრო დიდი ზომის ბირთვით, მკვეთრად გამოხატული პერინუკლეური „ჰალოს“ არსებობით და ხშირად მრავალბირთვიანობით. ქრომატინი გრანულურია და არათანაბრად არის განაწილებული ბირთვში (94). TBS კლასიფიკაციის მიხედვით, ციტოლოგიურად საშუალო და მძიმე დისპლაზია გაერთიანებულია ინ სიტუ კარცინომასთან ერთად HSIL კატეგორიაში. HSIL ციტოლოგიურ მორფოლოგიას ფართო ვარიაბელობა ახასიათებს. დაზიანების სიმძიმესთან ერთად მცირდება უჯრედის დიფერენციაციის ხარისხი და უჯრედში ციტოპლაზმის რაოდენობა, იზრდება N/C სიდიდე და ბირთვის ატიპიის ხარისხი.

TBS 2014 წლის კლასიფიკაციის მიხედვით, საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე მდგომარეობა ბრტყელი ინტრაეპითელური დაზიანების (SIL) კატეგორიის გარდა, მოიცავს ატიპური ბრტყელი ეპითელური უჯრედების (ASC) კატეგორიას. ASC კატეგორიად ითვლება ციტოლოგიური ცვლილება, როცა თვისობრივად და რაოდენობრივად ციტოლოგიური ცვლილება არასაკმარისია ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელური დაზიანების შესაფასებლად. ASC მოიცავს უჯრედულ ცვლილებებს, როცა არ არის SIL დაზიანება, მაგრამ ამავე დროს ცვლილებები ანთებითი ან რეაქციული პროცესებით არ არის გამოწვეული. ASC კატეგორია თავის მხრივ ორ ჯგუფად იყოფა: ASC-US და ASC-H. ASC-US - ბრტყელი ეპითელიოციტები განუსაზღვრელი მნიშვნელობის ატიპიით, ციტოლოგიური ცვლილება შეესაბამება LSIL-ს, მაგრამ ზუსტი დიგნოსტიკისთვის არასაკმარისია ციტოლოგიური დარღვევები. ASC-H -ციტოლოგიურად ვლინდება ატიპური უჯრედები, რომელთა არსებობა არ გამორიცხავს მაღალი ხარისხის დაზიანებას. ამ შემთხვევაში ციტოლოგიური დარღვევები გავს HSIL-ს, მაგრამ არასაკმარისია განსაზღვრული დიაგნოზისთვის (79).

მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის(WHO) და ამერიკის პათოლოგთა კოლეჯის (CAP)-ის მიერ, ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციისთვის ბეტესდა (TBS) სისტემაზე დაფუძნებული ნომენკლატურის შემოღებამ განაპირობა საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ჰისტოლოგიური დიაგნოზის გრადაცია 2 ტიპად, სამის ნაცვლად (იხ. ცხრილიN1). SIL-ის გრადაცია დაფუძნებულია ბაზალოიდური და არადიფერენცირებული ტიპის უჯრედების მიერ ეპითელიური შრის პროპორციულ მოცვაზე. აღნიშნულის გათვალისწინებით, ჰისტოლოგიურად LSIL -ის დროს ბაზალოიდური ტიპის უჯრედები მოიცავს ეპითელიუმის ქვედა ერთ მესამედს; HSIL-ის დროს ბაზალოიდური ტიპის უჯრედები მოიცავს ეპითელიუმის ქვედა ორ მესამედს და მეტს.

ტერმინი „დაზიანება“ კიბოსწინარე დაზიანების ჰისტოპათოლოგიური მდგომარეობის ბუნებრივ ისტორიას უკეთესად ასახავს, ვიდრე ტერმინი „ნეოპლაზია“, ვინაიდან HPV ინფექციით გამოწვეულ დაზიანებას, შესაძლოა მკურნალობის გარეშე ალაგდეს (94). ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელიური დაზიანების საშუალოდ 2 წლიანი დაკვირვების ბუნებრივად განვითარების გზა მოცემულია ცხრილში N2.

ცერვიკალური ციტომორფოლოგია							
კლასიფიკაცია ა ბეტესდა სისტემით (2014)	N ბრტყელუჯრე დოვანი ეპითელიური უჯრედები	ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL		ინვაზიური ბრტყელუჯრე დოვანი კარცინომა
	N ჯირკვლოვან ო ეპითელიური უჯრედები			ატიპურ ო უჯრედ ები	AIS		ინვაზიური ადენოკარცინ ომა
ცერვიკალური ჰისტომორფოლოგია							
კლასიფიკაცია (WHO)		?		LSIL	HSIL		ინვაზიური კარცინომა
ჰისტოლოგიური კლასიფიკაცია (Richart, 1973).	N	?		CIN 1	CIN2	CIN3 in-situ კარცინ ომა	ინვაზიური კარცინომა
ჰისტოლოგიური კლასიფიკაცია (Koss 1978)	N	საშუალო დისპლაზია ან საშუალო დისკერატოზი	საშუალო დისპლაზია ან საშუალო დისკერატოზი	საშუალო დისპლაზია ან საშუალო დისკერატოზი	საშუალო დისპლაზია ან საშუალო დისკერატოზი	მძიმე დისპლაზია ან in situ კარცინ ომა	ინვაზიური კარცინომა
იმუნოჰისტოქიმია							
p16 ^{ink4} იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევა - ბიომარკერის ექსპრესიაზე დაფუძნებული მეთოდოლოგია (CAP და ASCCP 2011)	არა	არა	არა	არა	არა	დიახ, p16 ^{ink4} იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვა ვლინდება დიფუზურად; HSIL	დიახ; ინვაზიური კარცინომა
იმუნოციტოქიმია (საჭიროებს მტკიცებულებას)							
ცერვიკალურ ნაცხში ბიომარკერების ექსპრესია (საჭიროა რანდომიზებული კვლევების შედეგები)	უარყოფითი?	უარყოფითი დადებითი?	უარყოფითი დადებითი?	დადებითი?	დადებითი?	ბიომარკერების ექსპრესია	

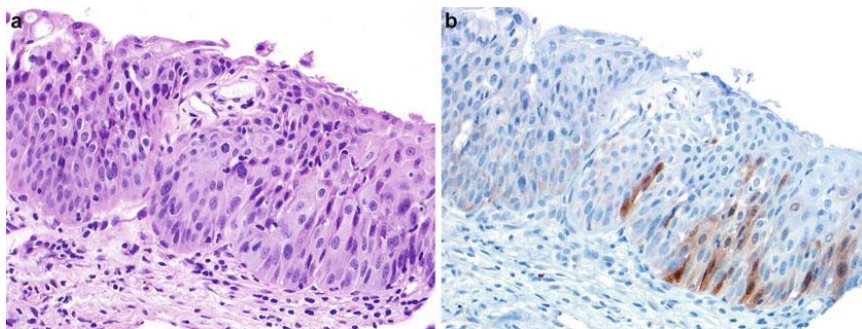
ცხრილი N1. საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების არსებული კლასიფიკაცია პათომორფოლოგიური და იმუნოფენოტიკური მახასიათებლების მიხედვით

ამ ეტაპზე საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ჰისტოპათოლოგიური შეფასებისას, სხვადასხვა პათოლოგიური ლაბორატორიები სხვადასხვა

ტერმინოლოგიას იყენებს. ზოგი მათგანი LSIL/HSIL ტერმინოლოგიას, ზოგიერთი CIN ტერმინოლოგიას, დისპლაზიას და ინ სიტუ კარცინომას იყენებს (45) (ცხრილი N1), რაც გარკვეულწილად დაბნეულობას იწვევს. ციტოლოგიურად ASC კატეგორიას არ აქვს შესაბამისი ჰისტოპათოლოგიური კატეგორია. ციტო- და ჰისტოპათოლოგიური კლასიფიკაციის სირთულე და მათი ნაკლები შესაბამისობა ქმნის გადახედვის საჭიროებას. ამავე დროს მორფოლოგიური მახასიათებლებზე დაყრდობით, ზოგჯერ რთულია უმწიფარი მეტაპლაზიის, რეგენერაციის, ატროფიის, ან სხვადასხვა ინფექციების დროს მორფოლოგიური ცვლილებების დიფერენცირება SIL ან ASC დაზიანებისგან (სურათი N1,2), თუმცა 2011 წლიდან პროექტ “lower Anogenital Squamous Terminology” (LAST) შედეგების გათვალისწინებით, CAP და ASCCP მიერ გაიცა რეკომენდაცია p16 IHC მეთოდის გამოყენების შესახებ რთული ჰისტოპათოლოგიური შემთხვევების დიფერენცირებისთვის (36, 19). ამ ეტაპზე ციტოლოგიურად რთული შემთხვევების დიფერენცირებისთვის (სურათი N3), ბიომარკერების გამოყენება რუტინულად არ ხდება, რაც შესაძლებლობას შექმნიდა შვესებულებო საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიკაციის ნაპრალი.

დაზიანება	რეგრესირება	შენარჩუნება	პროგრესირება
LSIL	60%	30%	10% პროგრესირდება HSIL-ად
HSIL	30%	60%	10% პროგრესირდება კიბოდ

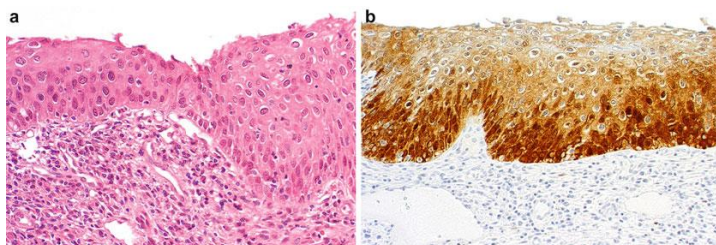
ცხრილი N2. საშვილოსნოს ყელის ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელური დაზიანების ბუნებრივად განვითარების გზა, საშუალოდ 2-წლიანი დაკვირვების პერიოდით (44)



ა.

ბ.

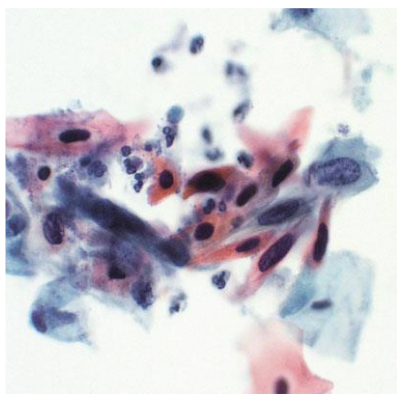
სურათი N1. AIM ატიპური უმწიფარი მეტაპლაზია; ა) H&E ჰისტოპათოლოგია; ბ) p16 IHC უარყოფითი (94)



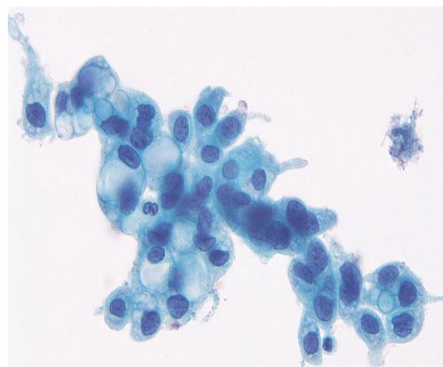
ა.

ბ.

სურათი N2. HSIL მეტაპლაზიის ფენოტიპით; ა) H&E ჰისტოპათოლოგია; ბ) p16 IHC დადებითი (94)



ა.



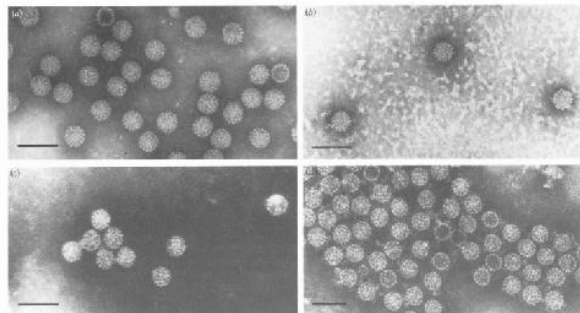
ბ.

სურათი N3. ა. HSIL ატიპური კერატინიზებული უჯრედი ჰიპერქრომული ბირთვით; ბ. HSIL-ის მსგავსი რეაქციული რეპარაციული ცვლილებები (53)

არსებული თეორიული ცოდნის საფუძველზე გასული საუკუნის 70- იანი წლების ბოლოს, გერმანელმა მეცნიერმა ჰარალდ ცურ ჰაუხენმა ჩამოაყალიბა მოსაზრება, რომ საშვილოსნოს ყელის კიბოს ადამიანის პაპილომა ვირუსი იწვევს (97). დღეს უკვე

მრავალი ეპიდემიოლოგიური, კლინიკო-პათოლოგიური და მოლეკულური კვლევებით დადასტურებულია, რომ საშვილოსნოს ყელი კიბოს და კიბოსწინარე დაზიანებას მაღალი რისკის (HR-HPV) ინფექცია იწვევს. აღნიშნული აღმოჩენისთვის 2008 წელს ჰარალდ ცურ ჰაუზენს ნობელის პრემია მიენიჭა.

ამერიკის ჯანმრთელობის ნაციონალური ინსტიტუტის პაპილომა ვირუსის ეპისტემის მონაცემთა ბაზის (NIH's Papillomavirus Episteme Database) ბოლო მონაცემების მიხედვით, ადამიანის ჩათვლით 92 სახეობის პაპილომა ვირუსი გაერთიანებულია 51 ტაქსონომიკურ ჯგუფში (სურათი N4). ადამიანის პაპილომა ვირუსი ტაქსონომიკური ჯგუფებიდან ალფაპაპილომა ვირუსის გვარს მიეკუთვნება. ამ ეტაპზე სექვენირებულია 441 პაპილომა ვირუსის გენომი, აქედან 220 განოტიპი ადამიანის პაპილომა ვირუსია. HPV გენოტიპების L1 რეგიონში აზოტოვანი ფუძეების შეუცვლელი თანმიმდევრობის მიხედვით ერთმანეთისგან განსხვავება მინიმუმ 10% შეადგენს (10).



სურათი N4. პაპილომა ვირუსის ელექტრონული მიკროგრაფი (3)

პაპილომა ვირუსს გარდა სახეობასპეციფიურობისა ახასიათებს ორგანო- და ქსოვილსპეციფიურობა. HPV-ის 40 ტიპი აინფიცირებს ანოგენიტალურ რეგიონს, საიდანაც ხშირად გვხვდება 20 ტიპი. კიბოს კვლევის საერთაშორისო სააგენტოს (International Agency for Research on Cancer, IARC) თანახმად 13 გენოტიპი მაღალი ონკოგენური რისკის ვირუსია (HR-HPV): HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, და 68 (3) (ცხრილი N3).

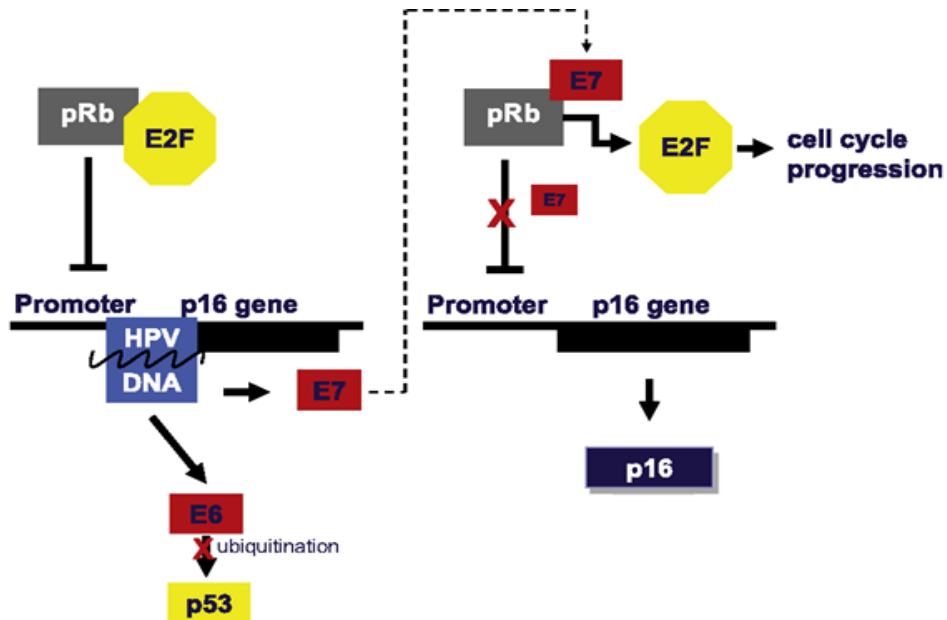
დაბალი ონკოგენური რისკის HPV (LR-HPV)	6, 11, 42, 43, 44, 53
მაღალი ონკოგენური რისკის HPV (HR-HPV)	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, და 68
გაურკვეველი ონკოგენური რისკის HPV	26, 66, 73, 82

ცხრილი N3. ანოგენიტალურ მიდამოში გავრცელებული ძირითადი HPV გენოტიპები

პაპილომა ვირუსი ორმაგჯაჭვიანი DNA ვირუსია, აქვს 8000 აზოტოვანი ფუძის წყვილისგან შემდგარი გენომი, 72 კაპსომერისგან შემდგარი იკოზაჰედრალური კაპსიდი, გარსის გარეშე ვირიონი 45-55 ნმ დიამეტრისაა. HPV გენომი შედგება 6 ადრეული ცილის (E1, E2, E4, E5, E6, and E7) გენის, ორის გვიანი ცილის (L1 and L2) გენის და არამაკოდირებელი გრძელი მაკონტროლებელი რეგიონისგან (LCR). HPV -ის ორ მნიშვნელოვან ცილას წარმოადგენს E6 და E7 ცილები (6). მასპინძლის გენომში ვირუსული გენომის ინტეგრაციით იწყება ვირუსული E6 და E7 ცილების სინთეზი (სურათი N5), რაც ეპითელიური უჯრედების პროლიფერაციასა და ონკოტრანსფორმაციასთან პირდაპირ კორელაციაშია (71).

სქესობრივი კავშირისას HPV-ის ეპითელიურ ქსოვილში შეჭრას ხელს უწყობს ეპითელიუმის ზედაპირული შრის მიკროდაზიანების არსებობა. ინფექციის გადაცემის რისკი განსაკუთრებით იზრდება მრავლობითი სქესობრივი პარტნიორების და სხვა სქესობრივად გადამდები ინფექციების არსებობისას. კვლევების მიხედვით ვლინდება რომ HPV გადაცემა შესაძლოა სქესობრივი კონტაქტის გარეშეც მოხდეს (11). HPV მნიშვნელოვან რეზისტენტობით გამოირჩევა ხშირად გამოყენებული დეზინფექტანტების წინააღმდეგ. მაგ.; ის რეზისტენტულია ჰოსპიტლებში ხშირად გამოყენებადი გლუტარალდეჰიდის მიმართ, ამიტომ მრავალჯერადი ხელსაწყოების გამოყენება რომელთა ავტოკლავირება ვერ ხდება, გინეკოლოგთან ვიზიტის დროს, ვირუსის გავრცელების პოტენციურ წყაროს წარმოადგენს. ინფიცირებიდან ვირუსული გენების ტრანსკრიპცია დაახლოებით 12-24 საათში იწყება (73). HPV ინფექციას არ ახასიათებს ციტოლიზური ეფექტი, არამედ ვირუსული ნაწილაკები გამოიყოფა დეგენერაციული ეპითელიური უჯრედების ჩამოფცქვნასთან ერთად. HPV ცოცხლობს დაბალ ტემპერატურაზე მასპინძლის გარეშე მყარ ზედაპირებზე, რაც ზრდის მისი გადაცემის შესაძლებლობას. მეცნიერ როდენის და მისი კოლეგების მიხედვით HPV რეზისტენტულია სიცხის და გამომშრობის მიმართ, ცოცხლობს ტანსაცმელზე და

ლაბორატორიულ ინსტრუმენტებზე. ვირუსი შემხები ზედაპირიდან ინარჩუნებს ინფექციურობას დაახლოებით 7 დღის განმავლობაში. გლობალურად, ქალების 12 % HPV DNA დადებითია, ეს მონაცემი ცვალებადია ასაკის და ქვეყნის მიხედვით (9). ვირუსის მიერ უჯრედში შეჭრიდან რამდენიმე თვე ან წელია საჭირო იმისთვის, რომ კლინიკურად გამოვლენილი დაავადება განვითარდეს, ამიტომ ეპიდემიოლოგიურად რთულია ზუსტი დროის დადგენა, თუ როდის მოხდა პაციენტის დაინფიცირება (90). უმრავლეს შემთხვევაში ორგანიზმი თავისთავად თავისუფლდება HPV ინფექციისგან მკურნალობის გარეშე. თუმცა რე-ინფექცია კვლავ ხდება. თავად ვირუსული ინფექცია კიბოს არ იწვევს, თუმცა ვირუსული ონკოპროტეინების მიერ უჯრედის ციკლის მარეგულირებელი სისტემის დისრეგულაცია ხელს უწყობს HPV-ის მიერ კიბოს განვითარებას. ონკოტრანსფორმაცია ვირუსული E5, E6 და E7 ცილებით ეპითელიუმის ბაზალური და პარაბაზალური უჯრედების უკონტროლო პროლიფერაციის სტიმულირებას უკავშირდება. ვირუსული ცილა E6 უჯრედული ლიგაზას მეშვეობით უჯრედის კიბოს მასუპრესირებელ ცილა p53-ის უბიქვიტინირებას ახდენს, რის შედეგადაც ცილა p53 პროტეოსომული გზით იშლება. მკვლევართა ერთი ჯგუფის აზრით, HPV-ის E6 ცილის მიერ დეგრადაციისკენ მიდრეკილი არის უფრო მეტად p53 Arg72 ვარიანტიები. ამის გამო p53 Arg72 პოლიმორფიზმის არსებობა შესაძლოა HR-HPV ინფექციით გამოწვეულ საშვილოსნოს ყელის კიბოს განვითარების რისკს ზრდის. ვირუსული ცილა E7 უკავშირდება ეპითელიურ უჯრედში რეტინობლასტომის (Rb) ცილას, რის გამოც თავისუფლდება უჯრედული ტრანკრიპციის ცილა E2F. აღნიშულის შედეგად ბაზალურ და პარაბაზალურ უჯრედებში აქტიურდება S ფაზის ცილების p16, Ki67, ProEx სინთეზი. HPV E5 ცილა ააქტიურებს EGFR სასიგნალო გზას (52, 51, 50).



სურათი N5. HR-HPV ინფექციისას ვირუსული ცილა E7-ით გამოწვეული უჯრედული p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია და უჯრედის ციკლის ცვლილება (19)

ყველა HPV გენოტიპი დაინფიცირებული უჯრედის პროლიფერაციას ასტიმულირებს, თუმცა ეპითელიური უჯრედების უკონტროლო პროლიფერაცია და ონკოტრანსფორმაცია დადასტურებულია მხოლოდ HR-HPV ინფექციისას, მათგან კი ყველაზე ხშირად მე-16 და მე-18 HR-HPV გენოტოპების შემთხვევაში (19). LSIL შესაძლოა ასოცირებული იყოს ნებისმიერ ანო-გენიტალურ HPV ტიპებთან. კვლევებმა აჩვენა, რომ LSIL-სგან განსხვავებით, HSIL შემთხვევათა თითქმის ნახევარი გამოწვეულია HPV 16 გენოტიპით. არსებითად ყველა HSIL დაკავშირებულია HR-HPV ინფექციასთან, რაც დასტურდება დაზიანებულ უბანში HPV DNA-ს გამოვლენით (58). არსებობს მტკიცებულებები, რომ საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის და შემდგომ ინვაზიური კიბოს განვითარების დამატებით რისკ ფაქტორებს წარმოადგენს თამბაქოს მოხმარება (85), კონტრაცეპტივების ხანგრძლივი გამოყენება (86), ხშირი ორსულობა (67), იმუნოდეფიციტური მდგომარეობა (48).

1.2. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგი და სკრინინგის გამოწვევები

კიბოს მიერ გამოწვეული ავადობის ტვირთის და სიკვდილობის შემცირების უმნიშვნელოვანეს ეფექტიან სტრატეგიას კიბოს სკრინინგი წარმოადგენს. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგი 80 წელზე მეტია რაც არსებობს და ამ ხნის მანძილზე ეპატობრივად ხდებოდა სკრინინგის მეთოდოლოგიის დახვეწა, ერთის

მხრივ დაზიანების ადრეული აღმოჩენის გაუმჯობესების და მეორეს მხრივ კლინიკური მართვის ზღურბლის მკაფიოდ განსაზღვრის კუთხით.

ჯერ კიდევ მეოცე საუკუნის დასაწყისში საშვილოსნოს ყელის კიბო წარმოადგენდა ავთვისებიანი სიმსივნეების მიერ გამოწვეული სიკვდილობის ყველაზე ხშირ მიზეზს ქალებში. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის ისტორია მეოცე საუკუნის ადრეული წლებიდან იწყება, როცა 1927-1929 წლებში აშშ-ში მეცნიერებმა გეორგიოს პაპანიკოლაუმ და აურელ ბაბემ დაადგინეს, რომ საშვილოსნოს ყელის კიბოს აღმოჩენა შესაძლებელია ცერვიკალური უჯრედების შესწავლით. შეიქმნა პირველი მეთოდოლოგია, სახელწოდებით პაპ ტესტი, რაც ეფუძნებოდა ციტოლოგიურ მასალაში უჯრედების მორფოლოგიური თავისებურებების შეფასებას. 1943 წელს გამოქვეყნდა ნაშრომი პაპ ტესტის გამოყენებით ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ნეოპლაზიური უჯრედული ცვლილებების აღმოჩენის შესახებ. დაახლოებით 10 წლის შემდეგ, ამერიკის სხვადასხვა შტატში, საშვილოსნოს ყელის კიბოს ყოველწლიური სკრინინგი დაიწყო, რის შედეგადაც მალე ამერიკის შეერთებულ შტატებში საშვილოსნოს ყელის კიბოს შემთხვევები მნიშვნელოვნად შემცირდა (20).

მას შემდეგ რაც 1976 წელს გერმანელმა მეცნიერმა ჰარალდ ცურ ჰაუზენმა გამოაქვეყნა ნაშრომი HPV ინფექციასა და საშვილოსნოს ყელის კიბოს შესაძლო კავშირს შორის, 1995 წელს IARC დასკვნის მიხედვით დადგინდა, რომ საშვილოსნოს ყელის კიბოს დაახლოებით 70 % HPV 16 და 18 ტიპებითაა გამოწვეული.

1996 წელს აშშ-ს პრევენციული სერვისების ოპერატიული ჯგუფის (USPSTF) რეკომენდაციით უსიმპტომო ქალებისთვის პაპ ტესტზე დაფუძნებული ყოველწლიური სკრინინგი შეიცვალა სამ წლიანი ინტერვალით. ამავე პერიოდში ამერიკის კიბოს ასოციაციის და ამერიკის ექიმთა კოლეჯის მიერ შემუშავებული დასკვნების მიხედვითაც, სკრინინგის წარმოება არ იყო რეკომენდებული ყოველწლიურად, თუმცა აღნიშნულ პერიოდში ექიმთა უმეტესობა ყოველწლიურ სკრინინგულ გამოკვლევას უწევდა რეკომენდაციას თითქმის 2004 წლამდე.

1996-1999 წლებში სკრინინგის სითხეზე დაფუძნებული ციტოლოგიური კვლევის მეთოდი დაინერგა. აღნიშნული მეთოდით შედარებით მკაფიო მიკროსკოპული მასალის მიღება და უჯრედების უფრო ეფექტური ხილვადობა გახდა შესაძლებელი.

თუმცა, აღნიშნულმა მეთოდმა მნიშვნელოვანი ცვლილება ვერ მოახდინა ციტოლოგიაზე დაფუძნებული მეთოდოლოგიის მგრძობელობის გაუმჯობესების კუთხით (26).

2006 წელს შეიქმნა HPV 16 და 18 გენოტიპების საწინააღმდეგო ვაქცინა. დღეს უკვე ხელმისაწვდომია სამი ტიპის ვაქცინა: ორ (HPV 16,18-), ოთხ (HPV 6,11,16,18-) და ცხრა (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58-) ვალენტის ვაქცინები. ვაქცინაციის არეალი გაფართოვდა და ხელმისაწვდომია მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში (32). ვაქცინაცია სკრინინგთან ერთად უმნიშვნელოვანესი სტრატეგიაა საშვილოსნოს კიბოს პრევენციისთვის (35).

მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის რეკომენდაციით საშვილოსნოს ყელის კიბოს ელიმინაციის გლობალური სტრატეგიის გაზომვად სამიზნეს წარმოადგენს:

- 1) 15 წლამდე ასაკის გოგონების 90% ვაქცინირებულია HPV-ის საწინააღმდეგო ვაქცინით;
- 2) 35 წლამდე და განმეორებით 45 წლამდე ქალების 70% ჩართულია სკრინინგ პროგრამაში;
- 3) საშვილოსნოს ყელის კიბოს 90% შემთხვევაში ტარდება სათანადო მკურნალობა (33).

2006-2009 წლებში HPV ინფექციის აღმომჩენი DNA ტესტირება დაინერგა. თუმცა, იმის გათვალისწინებით, რომ HPV საკმაოდ ხშირია ახალგაზრდა სქესობრივად აქტიურ ქალებში და ინფექციას ძირითადად ტრანზიტორული ხასიათი აქვს, სკრინინგ პოპულაციაში პაპ ტესტის მიხედვით საშვილოსნოს ყელის დაბალი ხარისხის ბრტყელუჯრედოვანი დაზიანების დიაგნოზი, HPV პოზიტიურ შედეგთან ერთად სკრინინგის მნიშვნელოვან გამოწვევას წარმოადგენს (62, 39).

HPV საწინააღმდეგო ვაქცინაციის მზარდი დანერგვის, ასევე სკრინინგის და ტრიაჟის ახალი მეთოდების დანერგვის პარალელურად, პაციენტის ოპტიმალური მართვისთვის მნიშვნელოვანია მაღალი ხარისხის დისპლაზიის რისკის ზღურბლის მკაფიო განსაზღვრა. ქვეყნებს შორის განსხვავებულია რუტინული სკრინინგის მეთოდები და მეთვალყურეობის ინტერვალი, ასევე განსხვავებულია კლინიკური მართვის ზღურბლი.

პოპულაცია	რეკომენდებული სკრინინგ მეთოდი	პაციენტის მართვა სკრინინგის შედეგების მიხედვით	შენიშვნა
21 წლამდე	სკრინინგი არ ტარდება		
21-დან 29 წლამდე	ციტოლოგიური გამოკვლევა ყოველ 3 წელიწადში	ციტოლოგიურად ASC-US ან LSIL ან უფრო მაღალი ხარისხის დაზიანების შემთხვევაში Refer to ASCCP guidelines	HPV ტესტირება ამ ასაკობრივ ჯგუფში არ გამოიყენება
30-დან 65 წლამდე	სასურველი: HPV და ციტოლოგიური კოტესტირება ყოველ 5 წელიწადში მისაღები: მხოლოდ ციტოლოგიური ტესტირება ყოველ 3 წელიწადში	1) HPV-დადებითი და ციტოლოგიურად ASC-US ან LSIL ან უფრო მაღალი ხარისხის დაზიანების შემთხვევაში Refer to ASCCP guidelines; 2) HPV-დადებითი, ციტოლოგიურად დაზიანების არ არსებობის შემთხვევაში-12-თვის შემდეგ მეთვალყურეობა კოტესტირებით; ან ტესტირება HPV16/18; თუ HPV16/18 დადებითია-კოლპოსკოპია; თუ HPV16/18 უარყოფითია -12-თვის შემდეგ მეთვალყურეობა კოტესტირებით. 3) კოტესტირებით უარყოფითი ან HPV-უარყოფითი და ASC-US-რე-სკრინინგი 5 წლის შემდეგ; 4) ციტოლოგია უარყოფითი ან HPV-უარყოფითი და ASC-US -რე-სკრინინგი 3 წლის შემდეგ;	მხოლოდ HPV ტესტით სკრინინგი არ არის რეკომენდებული ამ ასაკობრივ ჯგუფში
65 წელზე ზემოთ	ადრე ჩატარებული სკრინინგით ადეკვატური პასუხების არსებობის შემთხვევაში სკრინინგის გაგრძელება არ არის საჭირო		ბოლო 20 წლის განმავლობაში CIN2, CIN3 ან in situ ადენოკარცინომის შემთხვევაში უნდა გაგრძელდეს რუტინული სკრინინგი
ტოტალური ჰისტერექტომიის შემდეგ	სკრინინგი არ არის საჭირო		საშვილოსნოს ყელის არ არსებობისას, ან ბოლო 20 წლის მანძილზე CIN 2, CIN 3, in situ კარცინომის არარსებობის შემთხვევაში
HPV ვაქცინაციის შემდეგ	ასაკ სპეციფიური რეკომენდაციები იგივეა რაც არავაქცინირებული პირებისთვის.		

ცხრილი N4. რუტინული სკრინინგის და სკრინინგის შედეგების მიხედვით მართვის რეკომენდაციები, ASC & ASCCP (59)

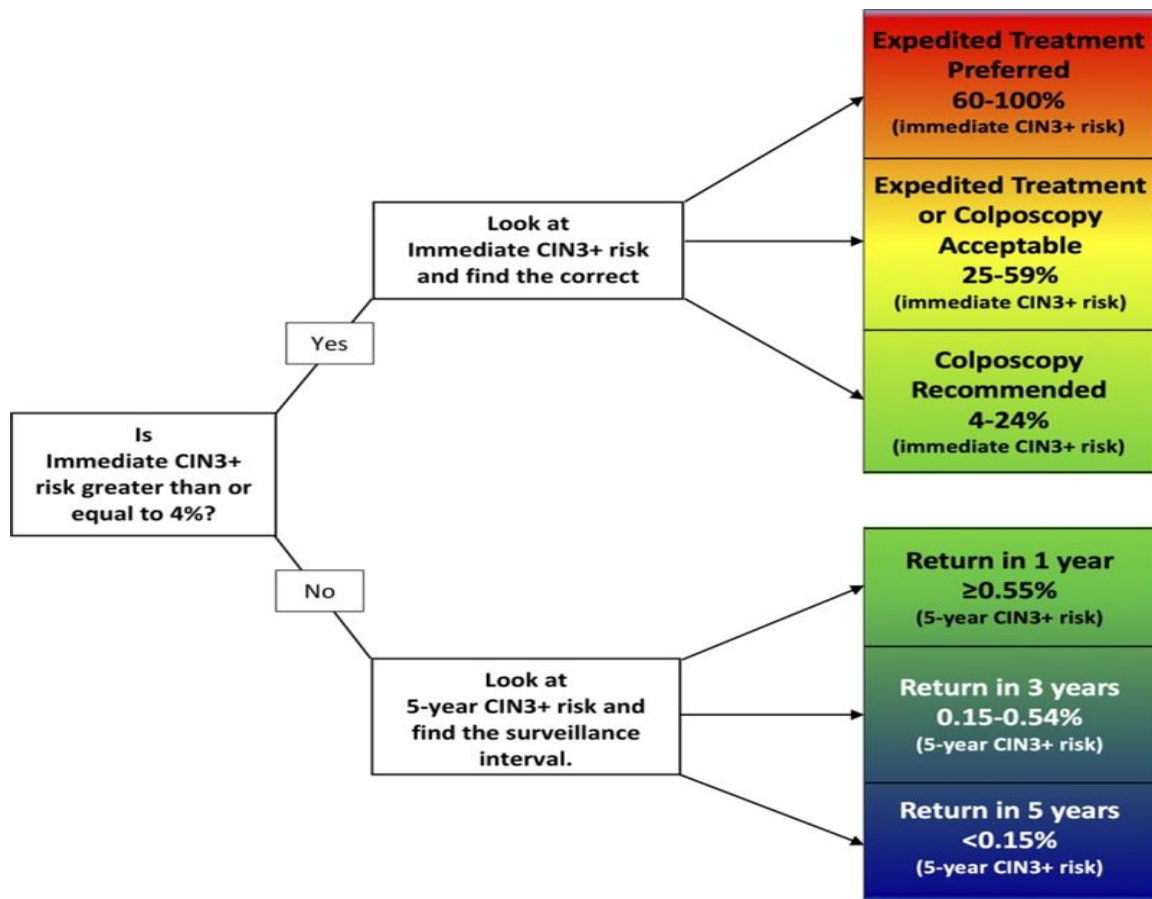
საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მეთოდები და ინტერვალი ბოლო პერიოდის განმავლობაში შეიცვალა. მაგ.; ASCCP 2012 წლის (ცხრილი 4) საშვილოსნოს

ყელის კიბოს სკრინინგის და მართვის გაიდლაინი (59) გადაიხედა და განახლდა მეან-გინეკოლოგთა ამერიკული კოლეჯის კავშირის (ACOG), კოლპოსკოპიის და საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიების ასოციაციის (ASCCP), გინეკოლოგიური ონკოლოგიის ასოციაციის (SGO) და ამერიკის პრევენციული სერვისების სამუშაო ჯგუფის (USPSTF) მიერ. განახლებული გაიდლაინის მიხედვით საშვილოსნოს ყელის კიბოს რუტინული სკრინინგში ჩართვის რეკომენდაცია ეძლევა 21-65 წლის ასაკის ყველა ასიმპტომურ ქალს; სკრინინგი მოიცავს სამ ხელმისაწვდომ სტრატეგიას: ციტოლოგიური ტესტირება, HPV კო-ტესტირება და HPV ტესტირება. ნორმალური სკრინინგის შედეგების შემთხვევაში, სკრინინგ-ინტერვალის გაზრდა რეკომენდებულია 3-დან 5 წლამდე (70). გადაიხედა რეკომენდაციები კიბოსწინარე დაზიანების მართვის კუთხით, რისკის გამოსავლენად შემუშავდა ცხრილები (57).

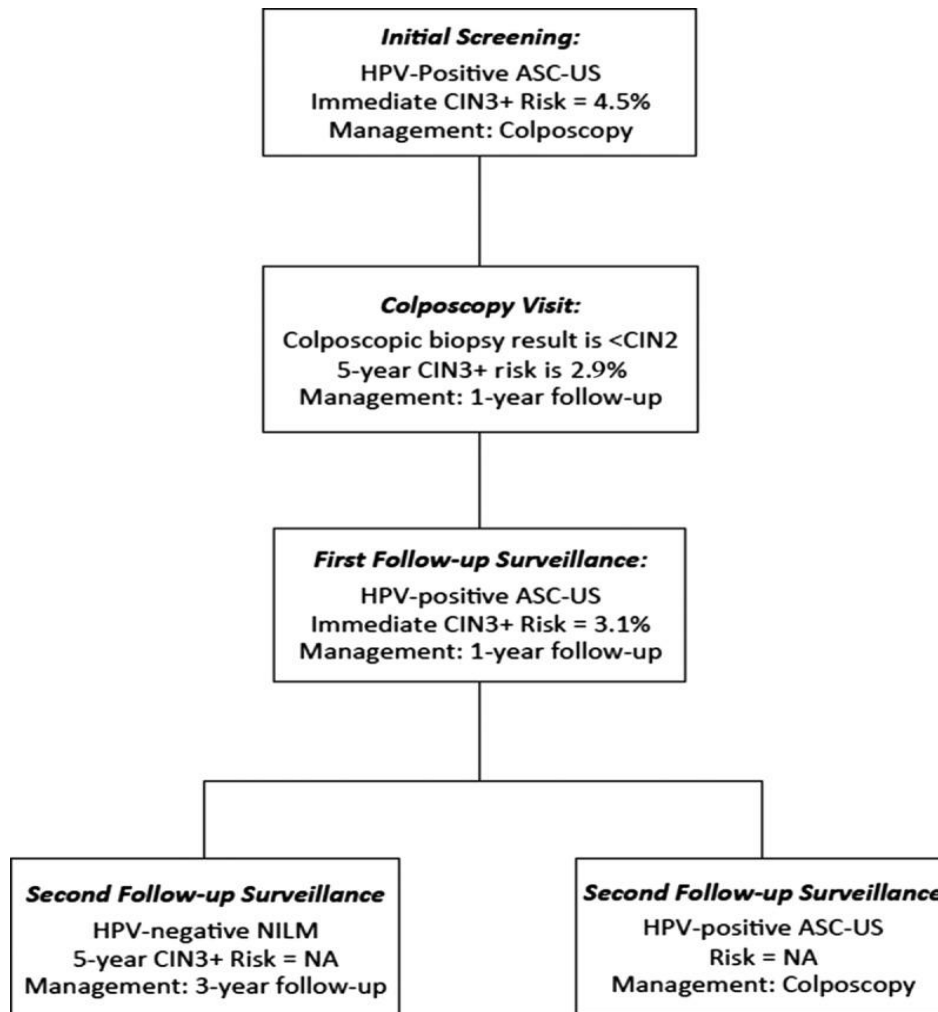
ევროპული გაიდლაინი მოიცავს HPV ტესტირების რეკომენდაციას პათოლოგიური ცერვიკალური ციტოლოგიის ტრიაჟისთვის და კოლპოსკოპიურ კვლევას HPV დადებითი ტესტის შემთხვევაში (66).

საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების მართვის შეთანხმებული გაიდლაინის მიხედვით ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines Committee (2020) კიბოს რისკის ეფექტურ ინდიკატორს CIN 3+ დაზიანება წარმოადგენს. CIN 3+ მოიცავს CIN 3, ინ სიტუ ადენოკრცინომას (AIS) და სკრინინგ პროგრამის ფარგლებში აღმოჩენილ ინვაზიური კარცინომის იშვიათ შემთხვევას. CIN 3+ დაზიანების რისკის სიდიდე განსაზღვრავს კლინიკური ქმედების ზღურბლს კოლპოსკოპიური გამოკვლევის, დაუყოვნებლივი მკურნალობის (აბლაციური მეთოდით ან ექსციზიური მეთოდით (კონიზაცია/LEEP /LLETZ) ან რუტინულ სკრინინგში ჩართვის გადაწყვეტილებასთან დაკავშირებით. რისკის შესაფასებელი ცხრილების გენერირება მოხდა მიმდინარე სკრინინგის შედეგების და სკრინინგის ისტორიის შედეგების, ან ასეთი შედეგის არარსებობისას, შესაძლო კომბინაციების საფუძველზე პროსპექტული გრძივი კოჰორტის, ამერიკული Kaiser Permanente Northern California (KPNC) კონსორციუმის მიერ ათ წელზე მეტის დროის განმავლობაში 1,5 მილიონი პაციენტის, მონაცემების საფუძველზე. აღნიშნული მონაცემების დამუშავება და რისკის სიდიდის გენერირება განხორციელდა Intramural Research Program of the National Cancer Institute-ის მიერ. რისკის განმსაზღვრელი ცხრილები ხელმისაწვდომია თავისუფლად ვებ

გვერდის საშუალებით (29, 30). ცხრილები ასევე ხელმისაწვდომია სმარტფონებისთვის შექმნილი აპის საშუალებით. აღნიშნული ცხრილების გამოყენებით შესაძლებელია სკრინინგში ჩართული პაციენტისთვის მიმდინარე სკრინინგ ტესტების შედეგების, ადრინდელი სკრინინგით CIN1, CIN2, CIN3, HPV თუ ჰისტოპათოლოგიური შედეგის, ასაკის, ასევე სხვა დამატებითი მნიშვნელოვანი ფაქტორების გათვალისწინებით, ინდივიდუალურად, CIN3+ რისკის დადგენა და მკაფიო რეკომენდაციის შემუშავება. იმ შემთხვევაში თუ CIN3+ არსებობის რისკი 4% -ზე მაღალია, მხოლოდ ამ შემთხვევაშია რეკომენდებული კოლპოსკოპია ან მყისიერი მკურნალობა. ხოლო იმ შემთხვევაში თუ CIN3+ არსებობის რისკი 4%-ზე ნაკლებია, შესაძლებელია ამ რისკის მეთვალყურეობა და შესაძლებელია განისაზღვროს რა პერიოდის შემდეგ უნდა დაუბრუნდეს პაციენტი რუტინულ სკრინინგს 1, 2, 3, თუ 5 წლის შემდეგ (სურათი N6 და N7).



სურათი N6. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას რისკის შეფასების ალგორითმი. ამერიკული მეან-გინეკოლოგთა კოლეჯის კავშირის (ACOG), ამერიკის კოლპოსკოპიის და საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიების ასოციაციის (ASCCP), გინეკოლოგიური ონკოლოგიის ასოციაციის (SGO) და ამერიკის პრევენციული სერვისების სამუშაო ჯგუფის (USPSTF) შეთანხმებული რეკომენდაცია



სურათი N7. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას რისკის გამოთვლის და მეთვალყურეობის ალგორითმი. ამერიკული მეან-გინეკოლოგთა კოლეჯის კავშირის (ACOG), საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიების და კოლპოსკოპიის ასოციაცია (ASCCP), გინეკოლოგიური ონკოლოგიის ასოციაციის (SGO) და ამერიკის პრევენციული სერვისების სამუშაო ჯგუფის (USPSTF) შეთანხმებული რეკომენდაცია

რისკ ფაქტორების გათვალისწინება და სკრინინგის ინტერვალის მართვა მნიშვნელოვანი რეკომენდაციაა ზიანის შესამცირებლად, თუმცა პაპ ტესტის დაბალ სენსიტიურობასთან ერთად, რეპროდუქციულ ასაკში HPV ინფექციის მაღალი პრევალირების გამო, სკრინინგის შესაძლოა არასაჭირო კოლპოსკოპიური კვლევის მაღალი სიხშირე ახლდეს. ამიტომ ხარჯთეფექტურობის და მაღალმგრძნობიარე სკრინინგ-მეთოდის საჭიროება, მაგ. სკრინინგ-მეთოდად ციტოლოგიასთან ინტეგრირებული ბიომარკერების გამოყენების შესაძლებლობა მნიშვნელოვან გამოწვევას წარმოადგენს. განსაკუთრებით საინტერესოა CIN2 (HSIL) შედეგის კატეგორია 25 წლამდე და 25 წლის შემდეგ, თუკი ორსულობა დგას დღის წესრიგში.

ასეთ შემთხვევაში HSIL ჯგუფში რეკომენდებულია დაკვირვება (კოლპოსკოპია პლუს ციტოლოგია 25 წლამდე, ხოლო კოლპოსკოპია პლუს გენოტიპირება 25 წლის ზემოთ 6-12 თვის შემდეგ) და არა რადიკალური მკურნალობა (57).

საქართველოში საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის პროგრამა 2008 წელს დაიწყო. პროგრამის დასაწყისში სკრინინგში ჩართვა შეეძლო მხოლოდ ქ.თბილისის მოსახლეობას. 2011 წლიდან სკრინინგის პროგრამა გაფართოვდა მთელი ქვეყნის მასშტაბით. საშვილოსნოს ყელის სკრინინგი საქართველოში: 1) სკრინინგის სამიზნე პოპულაცია და ინტერვალები: 25-60 წლის ასაკის ქალები, 3 წელიწადში ერთხელ; 2) ჩართულობა/მოწვევა: პირველადი ჩართვის პირდაპირი პოპულარიზაცია ხდება მედია-კამპანიების მეშვეობით და ზოგიერთ შემთხვევაში პირველადი ჯანდაცვის ექიმების მხრიდან. სკრინინგი საქართველოში ძირითადად სპონტანურია, თუმცა თბილისის ზოგიერთი დაწესებულება მეორად გამოძახებას ახორციელებს პირდაპირი მოწვევით სატელეფონო ზარის მეშვეობით. ქ. თბილისში საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მოცვა 14% ხოლო რეგიონებში 9%-ია (31). მწირია ლიტერატურა ეროვნულ დონეზე სკრინინგის შედეგების შესახებ. წამყვან ქვეყნებთან შედარებით, კიბოსწინარე დაზიანების მართვა ეროვნულ დონეზე უფრო აგრესიულია და განსხვავებულია ქვეყნის მასშტაბით, რაც სკრინინგ პროგრამაში ისედაც სპონტანური ჩართვის ფონზე, შესაძლოა სკრინინგის დაბალი მოცვის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ფაქტორი იყოს. საქართველოში კიბოს რეგისტრის მონაცემებით საშვილოსნოს ყელის კიბოს ახალი შემთხვევების დიაგნოსტიკა დაავადების I და II სტადიაზე მერყეობს 52%-დან 55%-მდე. საშვილოსნოს ყელის კიბოს ინციდენტობა საქართველოში აღემატება ევროპის რეგიონის და დსთ-ის ქვეყნების საშუალო მაჩვენებელს (საშვილოსნოს ყელის კიბოს ასაკ-სპეციფიური ინციდენტობა, საქართველო, 2015-2017). აქედან გამომდინარე, ნათელია, თუ რამდენად მნიშვნელოვანია კიბოს პრევენციული ღონისძიებების, ადამიანის პაპილომავირუსის საწინააღმდეგო ვაქცინაციის და სკრინინგის მოცვის მასშტაბების გაზრდა ქვეყნის მასშტაბით და სკრინინგში ჩართული პაციენტების მკაფიოდ გასაზღვრული კრიტერიუმებით მართვა ქალთა რეპროდუქციული ჯანმრთელობის შენარჩუნების გათვალისწინებით.

საშვილოსნოს ყელის ბრტყელუჯრედოვანი ინტრაეპითელური სხვადასხვა ხარისხის დაზიანებისას კოლპოსკოპიით დამიზნებითი ბიოფსიის საერთო სიზუსტე

66-71%-ს შორის მერყეობს ოპერაციასთან შედარებით, არასაკმარისი დიაგნოსტიკების სიხშირე 11,8%-ია, ხოლო ჰიპერდიაგნოსტიკების სიხშირე საშუალოდ 16,5%-ია (83).

საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მიერ გამოწვეული ზიანის შეფასების კუთხით, სხვადასხვა ავტორის ნაშრომების მიხედვით, რეპროდუქციულის ასაკის ქალებში მაღალია ცრუ დადებითი შედეგებით გამოწვეული სტრესი და პარტნიორთან ურთიერთობის გართულება, ასევე დაბალი ხარისხის დაზიანების გაუმართლებელი მკურნალობით გამოწვეული რეპროდუქციულ ჯანმრთელობასთან დაკავშირებული პრობლემები (68, 69, 6) მეორეს მხრივ, ციტოპათოლოგიის დაბალი სენსიტიურობა და HPV ტესტირების დაბალსპეციფიკურობა სკრინინგის დაბალ მოცვასთან ერთად, სკრინინგის მთავარ გამოწვევად რჩება, განსაკუთრებით განვითარებად ქვეყნებში.

1.3. საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანებისთვის დამახასიათებელი პოტენციური უჯრედული ბიომარკერები

ტექნოლოგიების განვითარებამ შესაძლებელი გახადა ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში უჯრედული ბიომარკერების აღმოჩენა, რაც დიდი ალბათობით კიბოს ადრეული დიაგნოსტიკის გაუმჯობესების ახალი ეტაპი გახდება. სხვადასხვა ავტორების ნაშრომების მიხედვით, საშვილოსნოს ყელის კარცინოგენეზის პოტენციურ უჯრედულ ბიომარკერებს, რომელთა ექსპრესიის ცვლილება შესწავლილია HR-HPV ონკოპროტეინების ურთიერთგავლენით, წარმოადგენს: p16^{INK4a}, Ki-67, ProEx (MCM2 და TOP2 ცილები), EGFR, p21, p27, miR-21, miR-127, miR-145, miR-143, miR-155, miR-199, miR-146a, miR-29a, miR-15a, miR-16, miR-214, miR-218, and miR-203. EGFR, Cav-1 ბიომარკერები. აღნიშნული ბიომარკერებს შორის მეტად სინტერესოა p16^{INK4a} და Ki-67 ცილების ექსპრესიის შესწავლა, ვინაიდან არსებულ ლიტერატურაზე დაყრდნობით, ცილა p16^{INK4a} -ის დისრეგულაცია პერსისტულ HR-HPV ინფექციას უკავშირდება, ცილა Ki-67 კი უჯრედის პროლიფერაციის ინდიკატორია. დაზიანებისთვის დამახასიათებელი

ცილა p16^{INK4a} (p16) აღმოჩენილი იქნა 1993 წელს მეცნიერების Serrano და კოლეგების მიერ (82). ცილა შედგება 148 ამინომჟავისაგან, მოლეკულური წონით 16 kDa, შეიცავს ანკირინის ოთხ განმეორებად უბანს. სახელწოდება უკავშირდება ცილის მოლეკულური მასას. ცილა აინჰიბირებს უჯრედის პროლიფერაციას cyclin-dependent

kinase CDK4 ინჰიბირებით (p16^{INK4A}). ცილა p16 -ის გენი cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (CDKN2A) მოთავსებულია 9p21.3 ქრომოსომაზე. p16 უჯრედის ციკლის მარეგულირებელი ცილაა. სხვადასხვა კვლევებით ვლინდება, რომ p16 ცილას უჯრედში გლობალური ფუნქცია აქვს და ჯერ კიდევ შესასწავლია ამ ცილის ბევრი ფუნქცია. კარგად არის შესწავლილი p16 ცილის, როგორც უჯრედის პროლიფერაციის მაინჰიბირებელის ფუნქცია. ცილა p16 აინჰიბირებს უჯრედის ციკლს ციკლინ D-CDK4/6 კომპლექსის წარმოქმნის დაინჰიბირებით, რაც ცილა Rb-ის ჰიპოფოსფორილირებას იწვევს. თავის მხრივ, ჰიპოფოსფორილებული ცილა Rb უკავშირდება E2F1 ცილას, რაც უჯრედის ციკლის შეჩერებას იწვევს G1 ფაზაში. მეორეს მხრივ, ფოსფორილებული Rb ცილა ასტიმულირებს p16 ცილის სინთეზს (77, 78, 61). ცილა p16 მონაწილეობს ასევე უჯრედის ფიზიოლოგიური დაბერების პროცესში (43). მკვლევართა სხვა ჯგუფის მიხედვით p16 ცილა შესაძლოა უკავშირდებოდეს აპოპტოზის დაინჰიბირებას და კიბოს განვითარებას (55). p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია ასევე ვლინდება HR-HPV ინფექციით გამოწვეულ კიბოსწინარე დაზიანებისას და ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს (76). მაღალი რისკის ადამიანის პაპილომა ვირუსით ინფექციისას, წარმოქმნილი ვირუსული ცილა E7 უკავშირდება და აინჰიბირებს უჯრედულ ცილა Rb -ს დაინფიცირებულ უჯრედში. Rb ცილის ინაქტივაცია ნეგატიური უკუკავშირით ააქტიურებს p16 ცილის ტრანსკრიპციას უჯრედის პროლიფერაციის დაინჰიბირების მიზნით. შესაბამისად, HR-HPV-ის მიერ გამოწვეული ცვლილებები p16 ცილის ჭარბ წარმოქმნას უკავშირდება. ცილა p16 უჯრედში ფიზიოლოგიური პროცესების დროს მცირე რაოდენობით წარმოიქმნება, ამიტომ ამ დროს მისი დეტექცია რუტინული იმუნოშედებვით არ ხერხდება. კლინიკური კვლევებით დადგენილია, რომ საშვილოსნოს ყელის ბრტყელუჯრედოვანი პათოლოგიებიდან, მაღალი ხარისხის ინტრაეპითელური დაზიანება და ზოგიერთი დაბალი ხარისხის ინტრაეპითელური დაზიანება, განსაკუთრებით კი HR-HPV ინფექციით გამოწვეული დაზიანება ხასიათდება ცილა p16-ის ჭარბი ექსპრესიით (46, 87). ამიტომ p16 ცილის ექსპრესიის მიხედვით შესაძლებელია პრეკანცერული პროცესების დიფერენცირება უმწიფარი მეტაპლაზიისგან და სხვა არა SIL პათოლოგიებისგან. CAP და ASCCP მიერ p16 IHC გამოყენება რეკომენდებულია

საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების და ინვაზიური კიბოს სუროგატულ (დამხმარე) ბიომარკერებად (17) (ცხრილი N1).

უჯრედული ცილა Ki-67-ის ინდუცირება პირველად ჰოჯკინის ლიმფომის L428 უჯრედული ხაზის ბირთვის კომპონენტებით ლაბორატორიული თაგვების იმუნოზაციის შედეგად მოხდა. ცილის აღმოჩენა განხორციელდა 359 kDa მონოკლონური ანტისხეულით, რომელიც 67-ე კლონი იყო. აღნიშნულ ანტისხეულს სახელწოდება ქალაქ კიელის მიხედვით დაერქვა, სადაც ის აღმოაჩინეს, ხოლო კლონის რიგითი ნომრის გათვალისწინებით ტარგეტულ ცილას საბოლოოდ უწოდეს Ki-67 (24). კვლევებით დადგინდა რომ Ki-67 ანტიგენის ექსპრესია ბირთვში ხდება უჯრედის S, G2 და M ფაზებში, მაგრამ არ ხდება G0 ფაზაში. თუმცა G1 ფაზაში მისი ექსპრესია ვარიაბელურია: G0-დან G1 ფაზაში გადასვლისას, კონკრეტულად G1T და პირველ G1A ფაზაში არ ექსპრესირდება, ხოლო მიტოზის შემდეგ G1 ფაზაში ექსპრესირდება. ეს შედეგი ადასტურებს იმას, რომ მიტოზურად აქტიურ უჯრედებს განსხვავებული მეტაბოლური აქტივობა აქვთ იმ უჯრედებთან შედარებით, რომლებიც პირველად გადადიან G0 ფაზიდან G1 ფაზაში. ვინაიდან ცილა Ki-67 ექსპრესია უჯრედის ბირთვში ვლინდება მიტოზურად აქტიური უჯრედის ციკლში, ამ ცილის ექსპრესიით შესაძლებელია ნორმალური და ნეოპლაზური უჯრედების ზრდის ფრაქციის განსაზღვრა (25). უჯრედში Ki-67 ცილის ექსპრესია ფართოდ გამოიყენება როგორც პროლიფერაციის მარკერი (2, 82). კვლევების მიხედვით ცილა Ki-67-ის ექსპრესია არ ვლინდება ნორმალურ ცერვიკალურ ეპითელიურ უჯრედებში, თუმცა ცილის ექსპრესია ვლინდება LSIL, HSIL და SCC-ის შემთხვევაში. ცილის ექსპრესიის ინტენსივობა იზრდება საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ხარისხის შესაბამისად (80). მხოლოდ ცილა Ki-67 ექსპრესიის გამოყენება არ არის რეკომენდებული ინტრაეპითელიური დაზიანების შეფასებისთვის (37). თუმცა არაერთი კვლევის მიხედვით, უჯრედში Ki-67 ცილის ექსპრესია უჯრედულ ცილა p16-თან ერთად აუმჯობესებს ცერვიკალურ ეპითელიუმში დისპლაზიის აღმოჩენის შესაძლებლობას და პერზისტულ LSIL ჯგუფში ამცირებს კოლპოსკოპიური გამოკვლევის საჭიროებას (8).

2011 წელს მეცნიერმა Petry-მ კოლეგებთან ერთად პირველად შეისწავლა და გამოაქვეყნა საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ერთდროულად ორი ცილის p16 და Ki-67 ექსპრესიის თავისებურება საშვილოსნოს

ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის გამოღენის მიზნით (59). მას შემდეგ, ბოლო 10 წლის მანძილზე სხვადასხვა ავტორის კვლევების შედეგები გამოქვეყნდა ორმაგი p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის შესახებ საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის დროს. შესაძლოა ორმაგი p16/Ki-67 ციტოლოგიური შეღებვა იყოს საუკეთესო შესაძლებლობა კიბოსწინარე დაზიანების აღმოსაჩენად, მაგრამ რანდომიზებული კვლევების შედეგებია საჭირო, სანამ ამ მიდგომების ასახვა მოხდება კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიკაციასა და შესაბამის გაიდალინებში, რუტინულ პრაქტიკაში დანერგვამდე.

საქართველოში აქამდე არ განხორციელებულა ცერვიკალური ნაცხის შესწავლა ბიომარკერების ექსპრესიაზე, ამიტომ წინამდებარე კვლევა ეხება საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგისას ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის თავისებურებების შესწავლას საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების დიაგნოტიკის შესაძლებლობის განსაზღვრის კუთხით.

თავი II

კვლევის მასალა და მეთოდები

2.1. საკვლევი მასალა

ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევა იყო ჯვარედინ-სექციური. საქართველოში პირველად ჩვენ განვახორციელეთ საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგში მონაწილე ქალების საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 ბიომარკერების შესწავლა ორმაგი იმუნოშედგენის (DS) მეთოდოლოგიის გამოყენებით. მოვახდინეთ მიღებული შედეგების და ასევე რუტინული ცერვიკალური სკრინინგის პათომორფოლოგიური კვლევების შედეგების ანალიზი. დიაგნოზის სტანდარტს წარმოადგენდა ცერვიკალური ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგები.

შევისწავლეთ, 21-დან 65 წლის ჩათვლით, იმ ქალების ცერვიკალური მასალა, რომელთაც პაპ ტესტის პათოლოგიური შედეგების გამო საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის პროგრამის ფარგლებში, განმეორებითი ტესტირებისთვის მიმართეს ქ.თბილისის გინეკოლოგიური სერვისის ლიცენზიის მქონე ცხრა კლინიკას 2011 წლის მარტიდან 2013 წლის დეკემბრის ჩათვლით პერიოდში. შემთხვევათა უმრავლესობაში განმეორებითი ტესტირება გინეკოლოგების რეკომენდაციით განხორციელდა, ხოლო 27 შემთხვევაში პაციენტის გადაწყვეტილებით 1 თვიან შუალედში, პაპ ტესტის პათოლოგიური შედეგების გადამოწმების მიზნით. აღნიშნულ პერიოდში შეგროვებული მასალის რაოდენობა განისაზღვრა საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის პროტოკოლის საფუძველზე ექიმების რეკომენდაციით და პაციენტების გადაწყვეტილებით. სულ იმუნოციტოქიმიით შევღებეთ და შევისწავლეთ 169 ქალის საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალა, იმუნოციტოქიმიის შესრულების პარალელურად ყველა ქალის პაპ ტესტის შედეგი იყო ხელმისაწვდომი. სამედიცინო ისტორიებიდან ხელმისაწვდომი იყო ასევე ჰისტოპათოლოგიის 29 შემთხვევის, HPV-PCR ტესტის 33 შემთხვევის და კოლპოსკოპიური კვლევის 75 შემთხვევის შედეგი.

ციტოლოგიურ მასალაში ბიომარკერების ექსპრესია შევისწავლეთ p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური მეთოდით, აქედან 3 შემთხვევაში შევისწავლეთ ბიოფსიურ მასალაში მარკერების ექსპრესია p16 იმუნიოჰისტოქიმიური (IHC) მეთოდით;

ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალა იმუნოციტოქიმიურად შეღებვისას შესწავლილი იქნა შემდეგი მახასიათებლების - p16 და Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის, შეღებულ უჯრედებში ბირთვის მახასიათებლის და სლაიდზე ანთებითი ინფილტრატების არსებობის მიხედვით. თითოეული მასალა გამოკვლეული იქნა დამოუკიდებლად სამი კლინიკური პათოლოგის მიერ. ცერვიკალურ მასალაში ბიომარკერების ექსპრესიის შედარება განხორციელდა შესაბამის ციტო-ჰისტოპათოლოგიურ და HPV PCR შედეგებთან.

ცერვიკალური მასალის აღებისას გათვალისწინებული იყო იმუნოციტოქიმიური კვლევისთვის ნაცხის აღების ყველა სათანადო მეთოდოლოგია. კერძოდ, 1) გათვალისწინებული იქნა ვაგინის ფიზიკური მანიპულაციების, ქიმიური გაღიზიანების, ქიმიო/რადიოთერაპიის მიმდინარეობის არქონა მასალის აღებამდე 24 სთ-ის განმავლობაში; 2) პროცედურის ჩატარება განხორციელდა მენსტრუალური ციკლის პროლიფერაციის ფაზაში. 3) ნაცხის ასაღებად გამოყენებული იქნა სამკუთხა ფორმის ჯაგრისი, რისი გამოყენებაც მოგვიანებით ფართოდ დაინერგა ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის მოსაგროვებლად გინეკოლოგიური სერვისის განმახორციელებელ დაწესებულებებში ქვეყნის მასშტაბით. 4) ვაგინალური სარკის განთავსების შემდეგ, საშვილოსნოს ყელის არხში ჯაგრისის წაწვეტებული ბოლოს განთავსებით და საათის ისრის მიმართულებით 360°-ით 5-ჯერ დატრიალებით მიღებული მასალის თანაბრად განაწილება ხორციელდებოდა ორ სასაგნე მინაზე; ჯაგრისის ერთი ბრტყელი ზედაპირიდან ერთჯერადად, ერთი მიმართულებით გასმით მიღებული მასალა გამოყენებული იქნა p16/Ki-67 DS გამოკვლევისთვის, ხოლო ჯაგრისის მეორე ბრტყელი ზედაპირიდან იგივე პროცედურით მეორე მინაზე მიღებული მასალა გამოყენებული იქნა პაპ ტესტით კვლევისთვის. იმუნოციტოქიმიური გამოკვლევისთვის მასალის ფიქსაცია ხორციელდებოდა პოლიეთილენგლიკოლის შემცველი სპრეით (Merkofix) და ციტოლოგიური მასალის გაშრობა ხდებოდა მინიმუმ 20 წუთის განმავლობაში. დაფიქსირებული მასალის სპეციალურ კონტეინერში მოთავსების შემდეგ, მასალის ტრანსპორტირება დანიშნულების ადგილზე გამოსაკვლევად ხორციელდებოდა 3 დღის შუალედში, მწარმოებლის ინსტრუქციის დაცვით. ბიომარკერებზე ყველა კვლევა იმუნოციტო- და იმუჰისტოქიმიური მეთოდებით განხორციელდა სამ სამედიცინო ცენტრში, ხოლო

ყველა მასალის შეფასება მოხდა სამი დამოუკიდებელი კლინიკური პათოლოგის მიერ. იმუნოჰისტოქიმიური კვლევისთვის გამოყენებული იქნა პარაფინის ბლოკი, რომელიც რუტინული ჰისტოლოგიური კვლევისთვის იყო დამზადებული. იმუნოციტოქიმიის პარალელურად ჩატარებული პაპ ტესტის და შემდგომი ჰისტომორფოლოგიური კვლევების შედეგები შესწავლილი იქნა შესაბამისი სამედიცინო ისტორიების საფუძველზე, შესაბამის სამედიცინო ცენტრებში, სადაც ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალები იქნა აღებული. მონაცემთა შეგროვებისას კვლევაში ჩართვის/გამორიცხვის კრიტერიუმებს წარმოადგენდა შემთხვევები, როცა 1) სლაიდები ვერ აკმაყოფილებდა The Bethesda 2001 სისტემის მიხედვით ცერვიკალური ციტოლოგიის კლასიფიკაციით განსაზღვრულ უჯრედოვანობის მინიმალურ კრიტერიუმს; 2) პაპ ტესტის შედეგების არარსებობა; 3) ორსულობა; 4) ქიმიოთერეპიული კურსის მიმდინარეობა; 5) რადიკალური ჰისტერექტომია. აღნიშნულიდან გამომდინარე საკვლევი მასალიდან გამოირიცხა 7 ციტოლოგიური მასალა. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის შედეგებზე მეთვალყურეობა განხორციელდა 3-10 წლის 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.

2.2. სლაიდების მომზადება და ორმაგი იმუნოციტოქიმიური

შეღებვის მეთოდოლოგია

საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის იმუნოშეღებვა განხორციელდა CINtec PLUS Kit (REF 9531, mtm laboratories, Heidelberg, Germany) გამოყენებით პათოლოგის ლაბორატორიაში, მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით. იმუნოშეღებვის პროცედურები შესრულდა შემდეგ ეტაპებად: 1) რეაგენტის მომზადება და დაბალანსება 20-25°C ტემპერატურაზე; 2) ნიმუშის რეჰიდრატაცია; 3) ეპიტოპის აღმოჩენა; 4) შეღებვა; 5) კონტრშეღებვა; 6) ორსაფეხურიანი მაუნტინგი. ანტიგენების აღმოსაჩენად გამოყენებული იქნა თავის პირველადი მონოკლონური ანტისხეულის E6H4TM კლონი, მიმართული ადამიანის p16 ცილის მიმართ და პირველადი

მონოკლონური კურდღლის ანტისხეულის 274-11 AC3 კლონი, მიმართული ადამიანის Ki-67 ცილის წინააღმდეგ. ციტოლოგიურ სლაიდზე ანტიგენის გამოყოფა ხდებოდა 10 წუთის განმავლობაში, 95-დან 99°C-მდე წყლის აბაზანაში. სლაიდების შეღებვა განხორციელდა Shandon Coverplate TM სისტემის გამოყენებით (REF 2010-953-009EU). ენდოგენური პეროქსიდაზას აქტივობის დაბლოკვის შემდეგ, სლაიდები ინკუბირებული იქნა 30 წუთის განმავლობაში პირველადი ანტისხეულის p16/Ki-67 ხსნარებით. ვიზუალიზაციის რეაგენტი HRP (პოლიმერული რეაგენტი კონიუგირებული ცხენის პეროქსიდაზასთან და აფინურობით გაწმენდილი თხის თაგვის-საწინააღმდეგო Fab ანტისხეულის ფრაგმენტით) გამოყენებული იყო 15 წუთის განმავლობაში, ვიზუალიზაციის რეაგენტი AP (პოლიმერული რეაგენტი კონიუგირებული ტუტე ფოსფატაზასთან და აფინიტურად გაწმენდილი თხის ანტისხეულების ფრაგმენტებით) გამოყენებული იქნა 15 წუთის განმავლობაში, DAB სუბსტრატის ქრომოგენის სამუშაო ხსნარი (მზადდება უშუალოდ შეღებვის წინ) 10 წუთის განმავლობაში და წითელი სწრაფი სუბსტრატის ქრომოგენის სამუშაო ხსნარი (მზადდება უშუალოდ შეღებვის წინ) 15 წუთის განმავლობაში დაყოვნებული იყო ნიმუშზე, ქრომოგენული ვიზუალიზაციის სლაიდები ამოღებულ იქნა Shandon Coverplate TM-დან ფაქიზად და ჩატარდა კონტრშეღებვა უალკოჰოლო ჰემატოქსილინის გამოყენებით. მაუნტინგის პროცედურა ჩატარდა ორ ეტაპად: პირველი, სითხეზე დაფუძნებული მაუნტინგი, ინკუბაციით ღამის განმავლობაში, გარემოს ტემპერატურაზე; მეორე, სრული გაშრობის შემდეგ, სლაიდები ინკუბირებული იყო ქსილენში 1-20 წუთის განმავლობაში და ქსილენზე დაფუძნებული მაუნტინგი გამოიყენებოდა სლაიდებზე საფარი მინით დასაფარებლად. ხარისხის კონტროლისთვის გამოიყენებოდა დადებითი და უარყოფითი კონტროლი, რისთვისაც გამოყენებული იყო პაპ მეთოდით შეღებილი საშვილოსნოს ყელის კიბოს დიაგნოზის და ნორმალური ციტოლოგიის სლაიდების უკუ-შეღებვა და ხელახალი შეღებვა, მწარმოებლის პროტოკოლის მიხედვით.

საშვილოსნოს ყელის ბიოფსიის ნიმუშების p16 იმუნოჰისტოქიმია ჩატარდა CINtec Histology Kit (REF 9531, mtm laboratories, Heidelberg, Germany) გამოყენებით, მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით. მოკლე აღწერა: ანტიგენის აღმოსაჩენად ჰისტოლოგიური სლაიდი მოთავსებული იყო 10 წუთის განმავლობაში 95-დან 99°C-

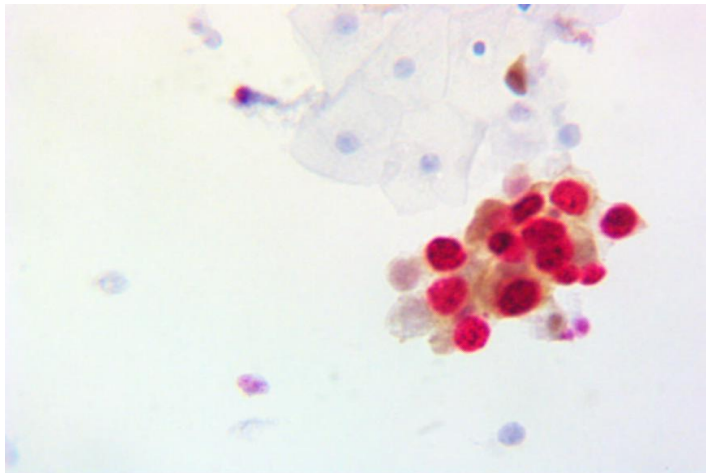
მდე წყლის აბაზანაში. ენდოგენური პეროქსიდაზას აქტივობის დაბლოკვის შემდეგ, სლაიდები ინკუბირებული იყო 30 წუთის განმავლობაში p16 ანტისხეულით (კლონი E6H4) და უარყოფითი რეაგენტის კონტროლით (იზოტიპის კონტროლის ანტისხეული, ორივე შედის CINtec ჰისტოლოგიურ კომპლექტში). მეორადი ანტისხეულების რეაგენტი (პოლიმერზე დაფუძნებული თხის ანტისხეულის ფრაგმენტი, კონიუგირებული ცხენის პეროქსიდაზასთან) გამოიყენებოდა 30 წუთის განმავლობაში. ქრომოგენული ვიზუალიზაციის საფეხურის შემდეგ 3,3'-დიამინობენზიდინის ქრომოგენის გამოყენებით, სლაიდები შეღებილი იქნა ჰემატოქსილინით და შედეგ დაიფარა სასაგნე მინით. ყოველი შეღებვისთვის გამოყენებული იყო დადებითი საკონტროლო სლაიდი, რომელიც შეიცავდა ქსოვილის სექციებს საშვილოსნოს ყელის ბიოფსიური მასალიდან p16 ბიომარკერისთვის ცნობილი დადებითი იმუნორეაქტიულობით, სათანადო შეღებვის პროცესის დასადასტურებლად.

თავი III

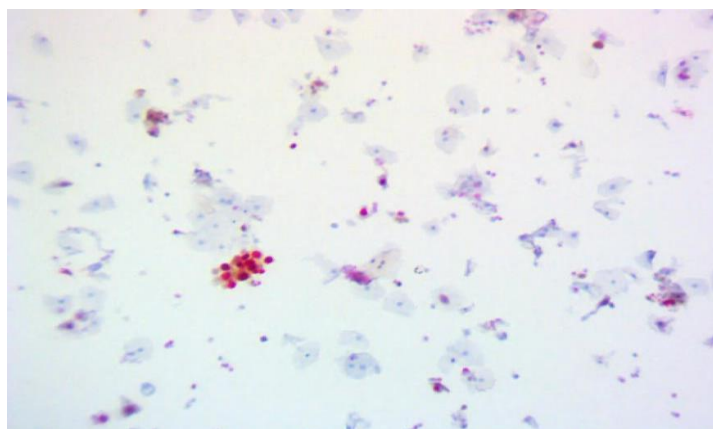
საკუთარი კვლევის შედეგები

3.1. იმუნოშეღებვის შედეგები და შედეგების კატეგორიზაცია

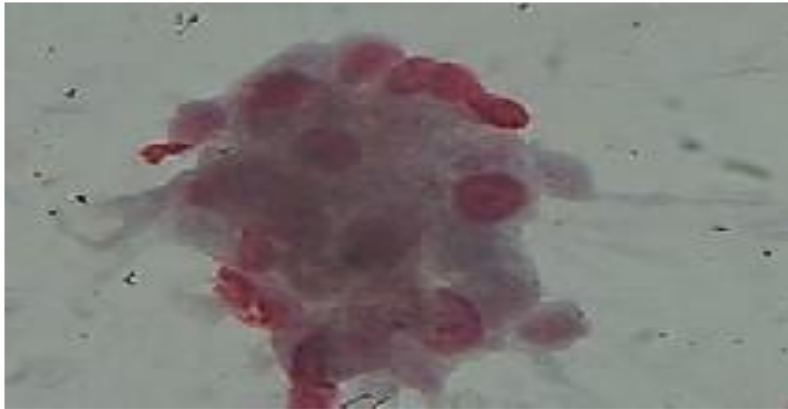
მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით, ჩვენს მიერ p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური მეთოდით შეღებილი სლაიდების სინათლის მიკროსკოპული გამოკვლევით ინტერპრეტაციისას, ეპითელური უჯრედში ციტოპლაზმის ყავისფერი(p16) და ამავდროულად ბირთვის წითელი (Ki-67) შეღებვა ერთზე მეტ უჯრედულ კლასტერში შეფასებული იქნა როგორც p16/Ki-67 DS დადებითი, ხოლო სლაიდზე უჯრედის ციტოპლაზმის და ბირთვის ერთდროულად სხვადასხვა შეღების არარსებობა შეფასებული იქნა როგორც p16/Ki-67 DS უარყოფითი შედეგი.



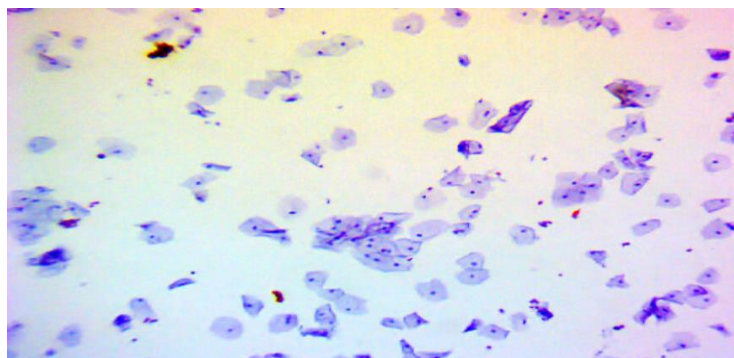
სურათი N8. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება



სურათი N9. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიით. x 100 გადიდება



სურათი N10. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება



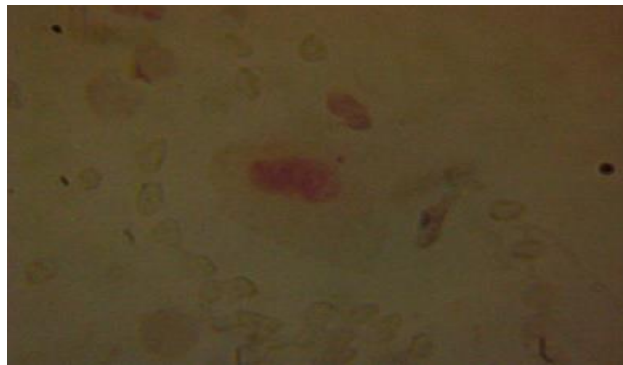
სურათი N11. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, უჯრედული ატიპიის გარეშე. x 100 გადიდება

იმუნოციტოშელეგასთან ერთად, ჩვენ მოვახდინეთ შეღებილი ეპითელური უჯრედების შეფასება უჯრედის ბირთვის მიხედვით ქულობრივი შეფასებით Wentzensen-ის და კოლეგების მიერ შემუშავებული კრიტერიუმების გათვალისწინებით (91). 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. იმუნოციტოშელეგასთან ერთად ეპითელური უჯრედების ზემოთ აღნიშნული მორფოლოგიური მახასიათებლების გათვალისწინებით, ციტოლოგიური სლაიდების შემდეგი კატეგორიები შევქმენით:

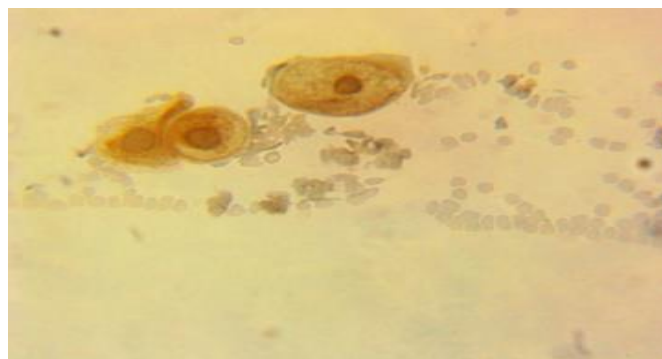
- p16/Ki-67 DS დადებითი, შეღებილი უჯრედები ატიპიით ან მის გარეშე კატეგორია;
- p16/Ki-67 DS უარყოფითი: ა) p16 შეღებვის გამოვლენით (p16 შეღებვა), შეღებილი უჯრედები ატიპიით ან მის გარეშე კატეგორია; ბ) Ki-67 შეღებვის გამოვლენით (Ki-67 შეღებვა), შეღებილი უჯრედები ატიპიით ან მის გარეშე კატეგორია; გ) ცალ-ცალკე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

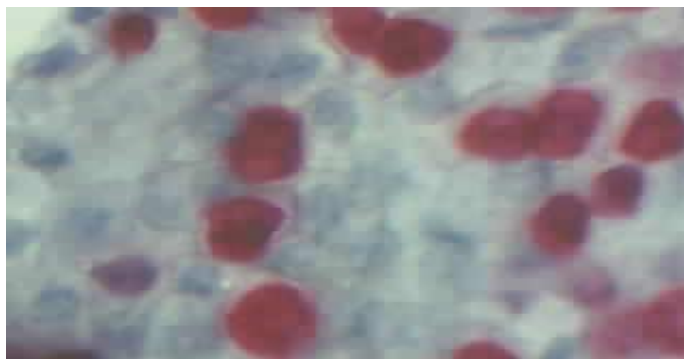
კატეგორიები წარმოდგენილია დიაგრამაზე N2, სურათებზე N8-16.



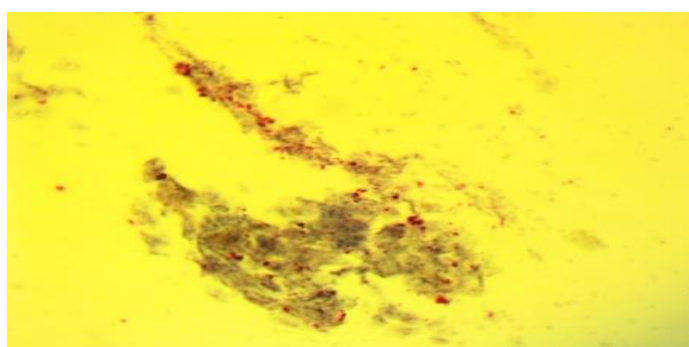
სურათი N12. p16/Ki-67 DS დადებითი, უჯრედული ატიპიის გარეშე. x 400 გადიდება



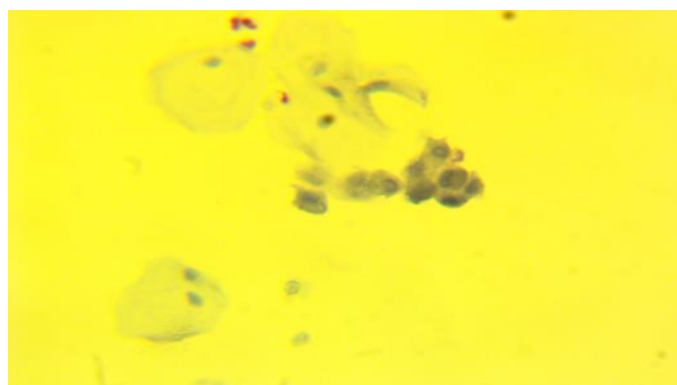
სურათი N13. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, p16 შეღებვა უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება



სურათი N14. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, Ki-67 შეღებვა უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება



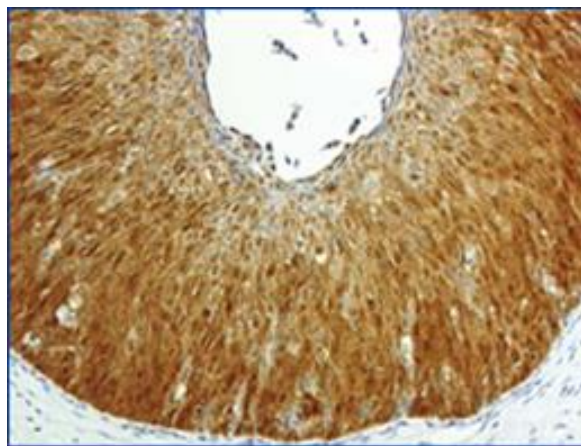
სურათი N15. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვა. x 100 გადიდება



სურათი N16. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, უჯრედული ატიპიით. x 400 გადიდება

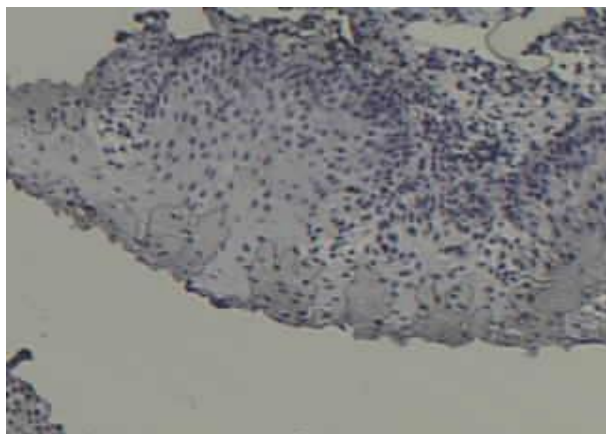
ციტოტექნოლოგის მიერ სლაიდების განხილვის შემდეგ, ყველა იმუნოშეღებილი სლაიდი შეფასდა სამი დამოუკიდებელი პათოლოგიის მიერ. პაპ ტესტის და ჰისტოპათოლოგიის შედეგები შეგროვდა პაციენტების სამედიცინო ჩანაწერებიდან.

საშვილოსნოს ყელის ორაზროვანი ჰისტოპათოლოგიის დიაგნოზის შემთხვევაში, შესაბამისი პარაფინის ბლოკიდან მიღებული ჰისტოლოგიური მასალის p16 იმუნოჰისტოქიმიით (IHC) შეღებვისას, შედეგების ინტერპრეტაცია გავნახორციელეთ LAST კვლევის შედეგების შესაბამისად შემდეგი პარამეტრების მიხედვით: 1) შეღებვის ინტენსივობა: ძლიერი (მუქი ყავისფერი ფერი დადებითი კონტროლის მსგავსი) ან სუსტი (ყვითელი ფერი მნიშვნელოვნად ღიაა, ვიდრე დადებითი კონტროლი); 2) შეღებვის მასშტაბი: დიფუზური (სიგნალი მოიცავს ეპითელიუმის > 50%-ს) ან ფოკალური (ეპითელიუმის < 50%); 3) შეღებვის უწყვეტობა: უწყვეტი (შეღებვა ვრცელდება უწყვეტად ლატერალურად მნიშვნელოვან მანძილზე) ან წყვეტილი (დადებითად ან უარყოფითად შეღებილი უჯრედების ალტერნატიული უბნები); და 4) შეღებვის მდებარეობა: შეღებილი უჯრედები მდებარეობს ეპითელიური შრის ქვედა მესამედში, ორ მესამედში ან სრულ სისქეში. აღიშნული ოთხი პარამეტრის მიხედვით, იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვის შედეგები დავყავით დადებით და უარყოფით კატეგორიებად (სურათი N17; N18).



სურათი N17. p16 IHC დადებითი. x 100 გადიდება

IHC-ის კატეგორიზაციის ნიმუშები აკმაყოფილებდა ყველა მოთხოვნას, რომელიც აღწერილია LAST კვლევაში (17): დადებითი შედეგები შეესაბამება ძლიერ, დიფუზურ და უწყვეტ იმუნორეაქტიულობას, რომელიც ვრცელდება ბაზალური შრეებიდან ზემოთ ეპითელიუმის სისქის ერთ მესამედზე მეტი სიღიბით. სხვა დანარჩენ შემთხვევაში შედეგი შეფასებული იქნა უარყოფითად.



სურათი N18. p16 IHC უარყოფითი. x 100 გადიდება

ჰისტოლოგიური მასალის p16 IHC შედეგის შედეგების ინტერპრეტაცია გავნახორციელეთ LAST კვლევის შედეგების მიხედვით (17), სადაც p16 IHC დადებითი კატეგორია შეესაბამებოდა HSIL-ს, ხოლო უარყოფითი p16 IHC შეესაბამებოდა <CIN1-ს.

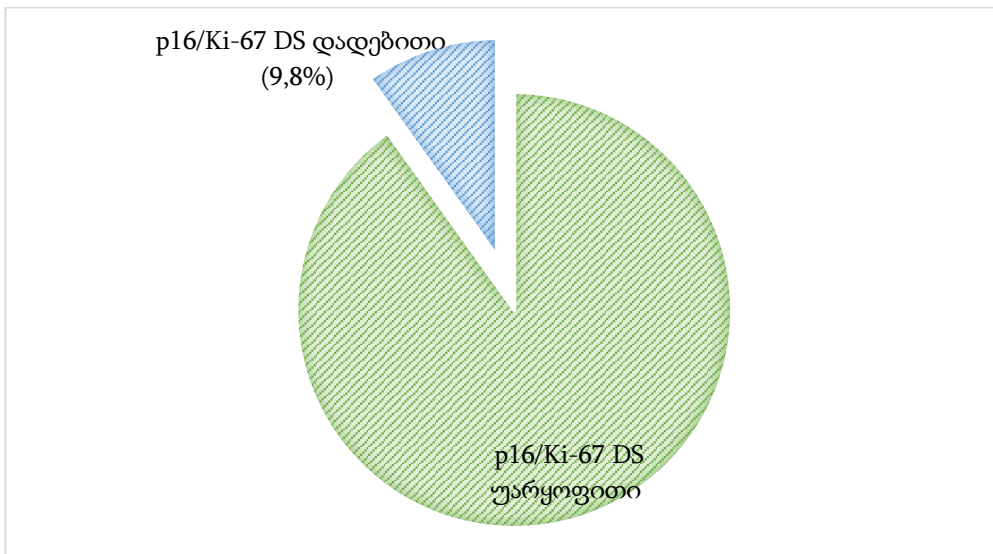
3.2. კვლევის შედეგების სტატისტიკური ანალიზი

კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმების გათვალისწინებით (იხ.მასალა და მეთოდები), p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური მეთოდოლოგიის გამოყენებით შევლეთ და შევისწავლეთ 169-დან 162 ქალის ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალა. კვლევის ფარგლებში შევისწავლეთ ყველა 162 შემთხვევის პაპ ტესტის, 29 შემთხვევის ჰისტოპათოლოგიის და 33 შემთხვევის HPV-PCR ტესტის შედეგი. სამედიცინო ისტორიების საფუძველზე 16 შემთხვევაში გამოვლინდა სხვადასხვა კომორბიდული მდგომარეობის არსებობა, ხოლო 2 შემთხვევაში ორალური კონტრაცეპტივის გამოყენება სხვადასხვა ხანგრძლივობით. ქალების ასაკი იყო 21-დან 65 წლის ჩათვლით, საშუალო მაჩვენებლით 37,4.

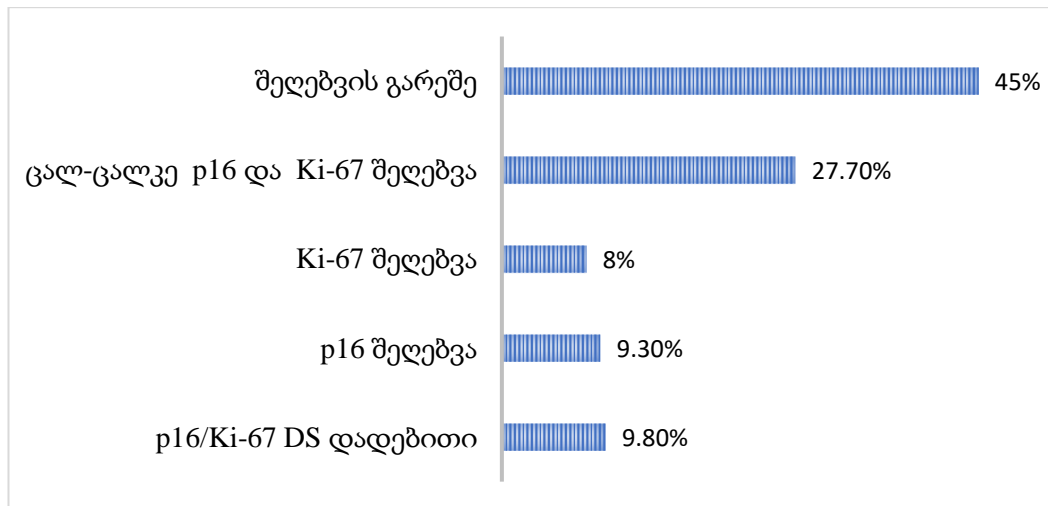
ყველა მონაცემი შეტანილი იქნა მონაცემთა ბაზაში და ჩატარდა სტატისტიკური ანალიზი. მონაცემები გაანალიზებულია SPSS პროგრამით (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.). კატეგორიულ ცვლადებს შორის შედარებისთვის გამოყენებული იქნა χ^2 ტესტი, ფიშერის ზუსტი ტესტი, 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 162 ქალის ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური შედეგებით, ორმაგი შედეგის დადებითობის მაჩვენებელი 9,8% იყო (დიაგრამა N1.). p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიური მეთოდით შედეგისას, იმუნო-ციტოლოგიური სლაიდების შედეგის კატეგორიები შემდეგნაირად განაწილდა: Ki-67 იმუნოციტოქიმიური შედეგის კატეგორია 8%, p16 შედეგის კატეგორია 9,3%; ორმაგი p16/Ki-67 შედეგის კატეგორია 9,8%; ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შედეგის კატეგორია 27,7%, შედეგის გარეშე კატეგორია 45% (დიაგრამა N2.).

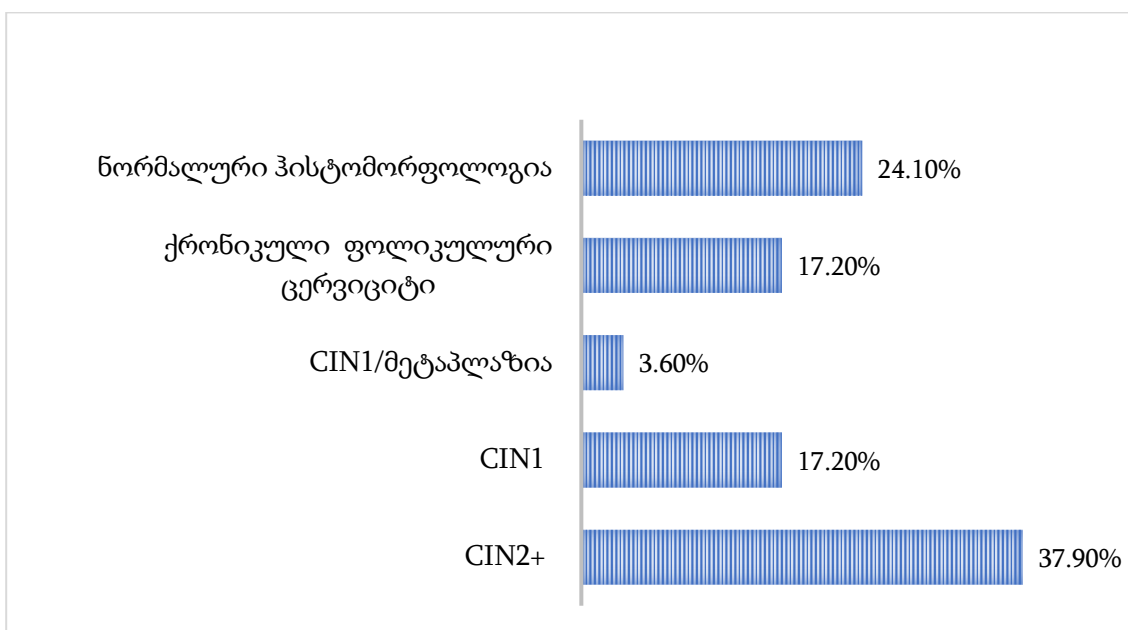


დიაგრამა N1. ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის იმუნოციტოქიმიით შედეგისას p16/Ki-67 DS დადებითი და p16/Ki-67 DS უარყოფითი შედეგების სიხშირე



დიაგრამა N2. ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიები

29 ქალის საშვილოსნოს ყელის ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზიდან 11 შემთხვევა იყო CIN2+ დიაგნოზით, აქედან 2 შემთხვევა იყო ორაზროვანი CIN2/CIN3, 2 შემთხვევაში იყო CIN2, 7 შემთხვევაში იყო CIN3, 5 შემთხვევაში იყო CIN1, აქედან ერთი შემთხვევას იყო ორაზროვანი შედეგი CIN1/მეტაპლაზია; 5 შემთხვევა იყო ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი; 7 შემთხვევაში ჰისტოპათოლოგიის შედეგი იყო ნორმა. ჰისტოპათოლოგიური მაჩვენებლების მიხედვით, ჩვენს კვლევაში ყველაზე ხშირი და ყველაზე იშვიათი შედეგები იყო CIN2+ და ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი, შესაბამისად (დიაგრამა N3.).

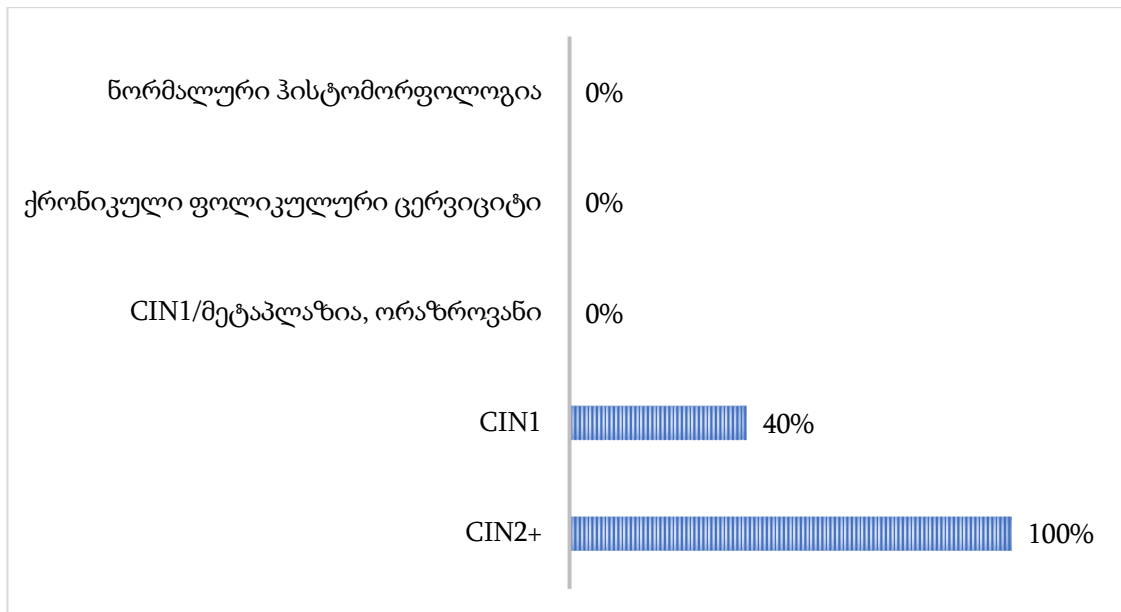


დიაგრამა N3. H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება

საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 DS დადებითი 16 შემთხვევიდან, განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, შესაბამისი ცერვიკალური ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიური კვლევის შედეგებიდან 11 შემთხვევაში დიაგნოზი იყო CIN 2+, ხოლო ორ შემთხვევაში შედეგი იყო CIN1 (ცხრილი N5. დიაგრამა N4). სამ დამოუკიდებელ პათოლოგს შორის, ციტოლოგიური სლაიდების p16/Ki-67 ორმაგი იმუნოციტოქიმიური შეღების შეფასებისას, კონსენსუსი შედეგებთან მიმართებაში იყო 100%.

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 N5. განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგები



დიაგრამა N4. განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგებისას H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების პროცენტული განაწილება

ჩვენი კვლევის მონაცემების ანალიზით, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიური მახასიათებლების მიუხედავად, p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიასა და ჰისტოპათოლოგიურად CIN2+ დაზიანებას შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი დამოკიდებულება გამოვლინდა ($p=2,5 \times 10^{-6} < 0,01$), რაც ადასტურებს იმას, რომ საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის ეპითელურ უჯრედებში ერთდროულად ორი ბიომარკერის p16/Ki-67 ექსპრესიის არსებობისას, სარწმუნოა ჰისტოპათოლოგიურად მაღალი ხარისხის დისპლაზიის არსებობა. საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალაში განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა, p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და შესაბამისი ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის ჯვარედინი ტაბულაცია და სტატისტიკური ანალიზის შედეგები მოცემულია დანართში N1.

ჩვენს კვლევაში, საშვილოსნოს ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიით მაღალი ხარისხის დისპლაზიის (CIN2+) გამოვლენის მგრძობელობა, სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy) შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიის მიუხედავად, დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად

ჰისტოპათოლოგიის გათვალისწინებით, არის 100%, 89%, 85%, 100% და 93%, შესაბამისად (ცხრილი N6).

ჰისტოპათოლოგიურად CIN2+ აღმოჩენის შესაძლებლობა	სენსიტიურობა % (95% CI)	სპეციფიკურობა % (95% CI)	PPV %	NPV %	სიზუსტე % (Accuracy)
განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა p16/Ki-67DS დადებითი იმუნოციტოქიმია	100	89	85	100	93
p16/Ki-67DS დადებითი იმუნოციტოქიმია, უჯრედული ატიპიით	91	94	91	94	93
პაპ ტესტი	9	100	85	64	66

ცხრილი N6. p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა, სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy)

ერთი შემთხვევის გარდა, p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის ყველა შემთხვევაში, სადაც შესაბამისი ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგი CIN2+ იყო, ციტოლოგიური მასალის ორმაგად შეღებულ 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 უჯრედული ატიპიით p16/Ki-67DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგი, ხოლო მეორე შემთხვევაში უჯრედული ატიპიის გარეშე p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგი გამოვლინდა (ცხრილი N7).

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

ცხრილი N7. H&E ჰისტოპათოლოგიის და უჯრედული ატიპიით/ატიპიის გარეშე p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოციტოქიმიის შედეგების დისტრიბუცია

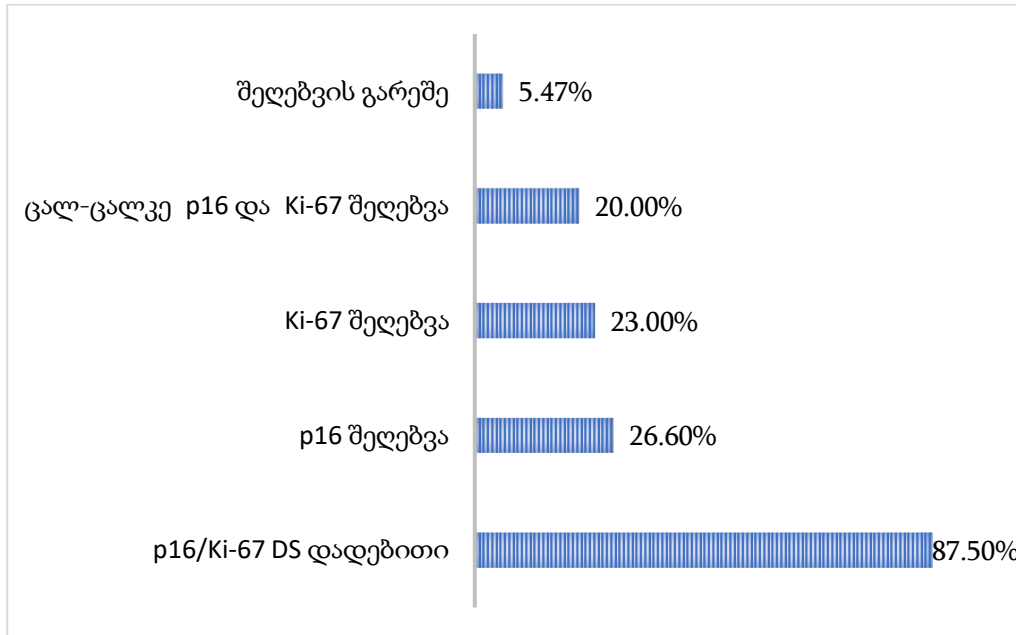
ჩვენი კვლევის მონაცემების სტატისტიკური ანალიზით, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში იმუნოციტოქიმიით შეღებილი უჯრედების ატიპიის გათვალისწინებით, p16/Ki-67 ორმაგი მარკერების ექსპრესიასა და ჰისტოპათოლოგიურად CIN2+ დაზიანებას შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი დამოკიდებულება გამოვლინდა ($p=5,75 \times 10^{-6} < 0.01$). საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ეპითელური უჯრედების ორმაგი p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიასთან ერთად ატიპიის არსებობა და შესაბამისი ბიოფსიური მასალის H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების ჯვარედინი ტაბულაცია სტატისტიკური ანალიზის შედეგებით მოცემულია დანართში N2.

ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში იმუნოციტოქიმიით შეღებილი უჯრედების ატიპიის გათვალისწინებით, p16/Ki-67 ორმაგი დადებითი შედეგის სენსიტიურობა, სპეციფიურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy) საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოსაჩენად იყო 91%, 94%, 91%, 94% და 93%, შესაბამისად (ცხრილი N6), დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად ჰისტოპათოლოგიის შედეგების გათვალისწინებით. 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. იმუნოციტოქიმიისას მორფოლოგიური მახასიათებლების გათვალისწინებისას გამოვლინდა „შეცდომა ტიპი 1“ (Type 1 error). აღსანიშნავია, რომ ციტოტექნოლოგსა და პათოლოგებს შორის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის შედეგების შეფასებისას ინტერპრეტაციის ვარიაბელობა არ გამოვლენილა, თუმცა შედეგების ვარიაბელობა გამოვლინდა ბიომარკერების ექსპრესიასთან ერთად მორფოლოგიური შეფასების კომპონენტის დამატების შემთხვევაში.

კვლევაში ჩართული ქალების ასაკობრივ კატეგორიებად დაჯგუფებით, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki67 DS დადებითი შედეგი 28-50 წლის ასაკობრივ შუალედში გამოვლინდა. საშუალო ასაკით 38,6; ჩვენს კვლევაში ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის ცვლადზე ქალის ასაკის ზეგავლენა არ გამოვლინდა. თუმცა p16/Ki67 DS

დადებითი შედეგების პრევალირება გამოვლინდა 40 წლის ასაკის ზემოთ ქალებში. ქალის ასაკისა და p16/Ki67 DS ცვლადებს შორის კროსტაბულაცია სტატისტიკური ანალიზით მოცემულია დანართი N3-ში.

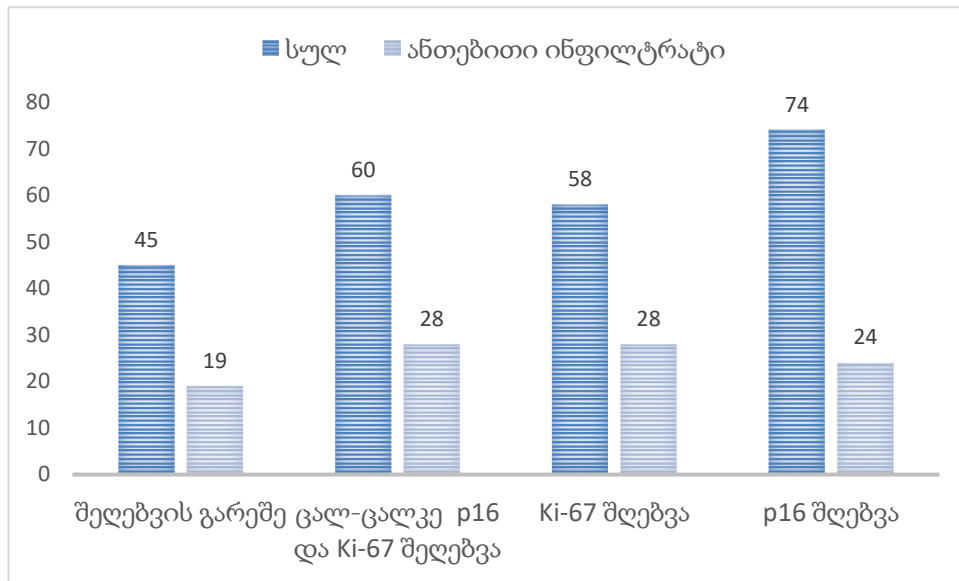
ციტოლოგიური სლაიდების კატეგორიები ეპითელური უჯრედების იმუნოშეღებვასთან ერთად მორფოლოგიური მახასიათებლის მიხედვით მოცემულია დიაგრამა N5-ზე.



დიაგრამა N5. p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიებში უჯრედული ატიპიის სიხშირე

ჩვენი მონაცემებით, 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. მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება მოცემულია დანართებში N4, N5, N6 შესაბამისად. თუმცა მიღებული შედეგების არსებობა არ გამორიცხავს ბიომარკერების ექსპრესიასა და უჯრედულ მორფოლოგიას შორის დამოკიდებულებას.

p16/Ki-67 DS იმუნოციტოშელეზისას ციტოლოგიური სლაიდების კატეგორიები ეპითელიური უჯრედების იმუნოშელეზის და ანთებითი ინფილტრატების არსებობის მიხედვით მოცემულია დიაგრამა N6-ზე.



დიაგრამა N6. ანთებითი ინფილტრატების გავრცელების სიხშირე p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით სხვადასხვა შელეზის კატეგორიებში

ჩვენი კვლევის მიხედვით, ცერვიკალური სადიაგნოსტიკო მასალის ეპითელიურ უჯრედებში p16, Ki-67, ან p16 და Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის ცვლადზე ანთებითი პროცესების გავლენა არ გამოვლინდა, $p > 0,29$, $p > 0,18$ და $p > 0,89$ შესაბამისად. მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება მოცემულია დანართი N7, N8, N9, შესაბამისად. თუმცა მიღებული შედეგები არ გამორიცხავს ბიომარკერების ექსპრესიას და ანთებით პროცესებს შორის დამოკიდებულებას.

29 შემთხვევიდან, ცერვიკალური ბიოფსიური მასალის სამი H&E ჰისტოპათოლოგიის შემთხვევა ორაზროვანი იყო, მათგან ორი შემთხვევაში დიაგოზი იყო CIN2/CIN3, ხოლო ერთი შემთხვევა იყო CIN1/მეტაპლაზია. აღნიშნულ 3 შემთხვევაში შესაბამისი მასალების პარაფინის ბლოკიდან მიღებული ჰისტოლოგიური მასალა გამოვიყენეთ p16 იმუნოჰისტოქიმიით (IHC) გამოკვლევისთვის. ორაზროვანი CIN1/მეტაპლაზიის შემთხვევაში p16 IHC შელეზვა უარყოფითი მივიღეთ(სურათი N18). ხოლო ორაზროვანი CIN2/CIN3 ორ შემთხვევაში p16 IHC შელეზვის შედეგი დადებითი იყო ეპითელიუმის ყველა შრეში (სურათი N17). აქედან გამომდინარე, პირველი ორაზროვანი შემთხვევა შეფასდა როგორც არა SIL, ხოლო მეორე და მესამე ორაზროვანი

შემთხვევა შეფასდა როგორც CIN3 ანუ HSIL, LAST პროექტის კრიტერიუმების შესაბამისად (17). ამავე დროს, p16 IHC უარყოფითი შემთხვევის შესაბამის ციტოლოგიურ ნიმუშში p16/Ki-67 DS შედეგი უარყოფითი იყო, ხოლო p16 IHC ორივე დადებითი შემთხვევის ციტოლოგიურ ნიმუშებში p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმია დადებითი იყო. მონაცემების სიმცირის გამო p16 IHC, H&E ჰისტოპათოლოგიის და p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის შედეგებს შორის სტატისტიკური კორელაციის დადგენა ვერ მოხერხდა, თუმცა გამოვლინდა რომ ყველა ჰისტოლოგიური მასალის p16 IHC დადებითი შედეგის შემთხვევაში, შესაბამისი ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის შედეგი დადებითი იყო. შედეგები წარმოდგენილია ცხრილში N8. აღსანიშნავია, რომ H&E ორაზროვანი ჰისტოპათოლოგიის ყველა შემთხვევისთვის, p16 IHC შედეგის შედეგებთან დაკავშირებით პათოლოგებს შორის კონსენსუსი 100% იყო.

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

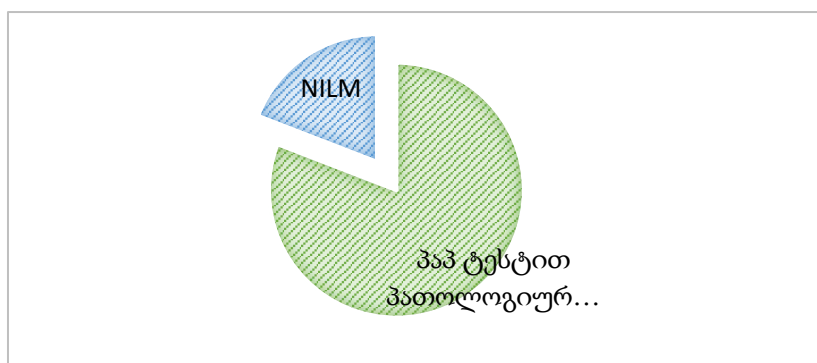
ცხრილი N8. H&E ჰისტოპათოლოგიის და იმუნოშედეგების შედეგების განაწილება ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში

საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიით ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლიდან გრძელვადიანი პერიოდის (3-10 წლის) გასვლის შემდეგ, უარყოფითი შედეგის მქონე 10 ქალის (საშუალო ასაკით 41,5 წელი) ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში პაპ ტესტის შედეგების მიხედვით დისპლაზიის არცერთი შემთხვევა არ გამოვლენილა. შედეგები მოცემულია ცხრილში N9.

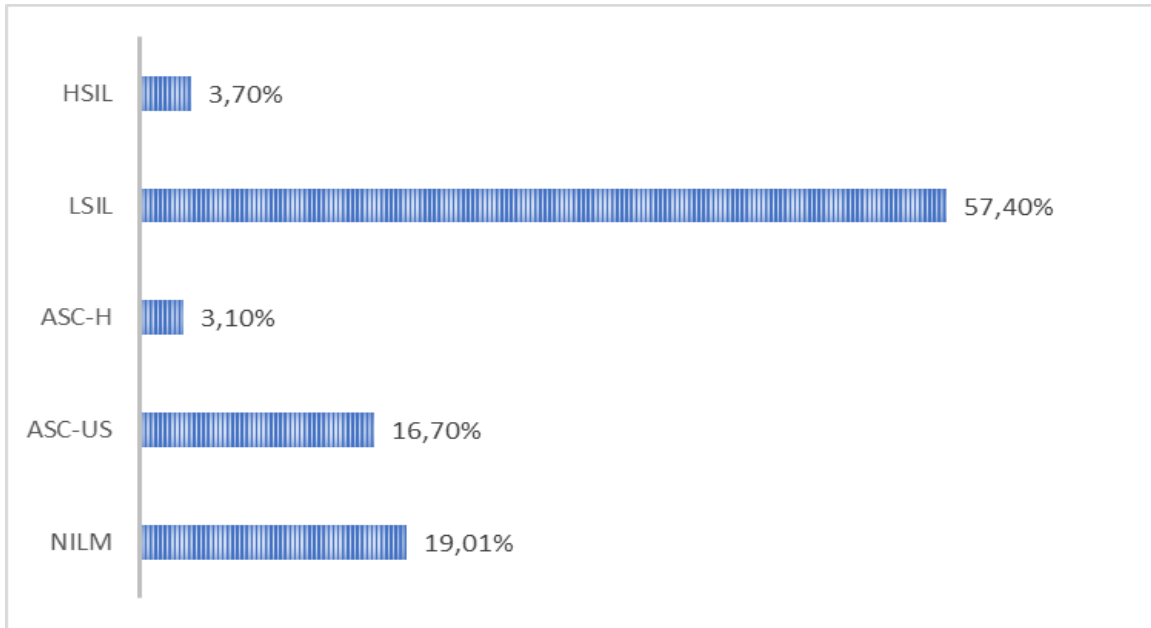
საწყისი სკრინინგის პერიოდი	ასაკი საწყისი სკრინინგისას	p16/Ki-67 DS შედეგები საწყისი სკრინინგისას	პაპ ტესტის შედეგები საწყისი სკრინინგისას	სკრინინგის მეთვალყურეობის პერიოდი	პაპ სკრინინგის მეთვალყურეობის შედეგები
2011	30	უარყოფითი	LSIL	2014	NILM
2011	34	უარყოფითი	LSIL	2015	NILM
2012	40	უარყოფითი	NILM	2016	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

ცხრილი N9. 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, ბეტესდა კატეგორიების მიხედვით სხვადასხვა პათოლოგიები (SIL, ASC) გამოვლინდა (დიაგრამა N7.), მათ შორის ყველაზე ხშირი და ყველაზე იშვიათი პაპ ციტოლოგიური შედეგები იყო LSIL და ASC-H, შესაბამისად (დიაგრამა N8.).

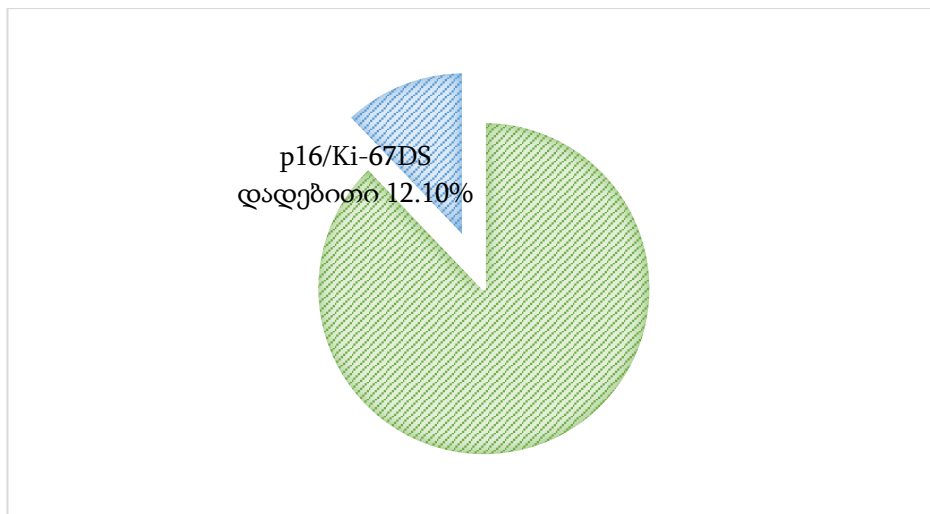


დიაგრამა N7. პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგების საერთო სიხშირე



დიაგრამა N8. პაპ ტესტის შედეგების განაწილება

პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგებიდან ბეტესდა კატეგორიების პროცენტული განაწილება შემდეგი იყო: ASC-US 27 (20,6%); ASC-H 5 (3,8%); LSIL 93 (70,9 %); HSIL 6 (4,6 %).



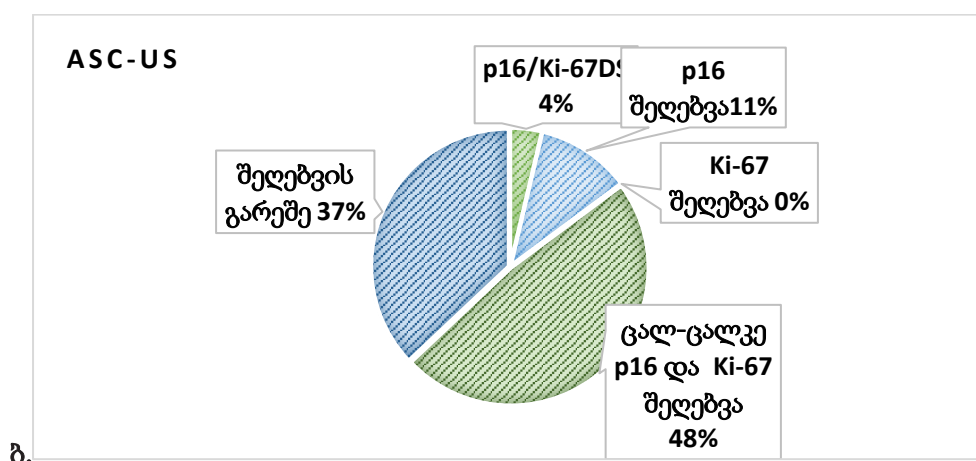
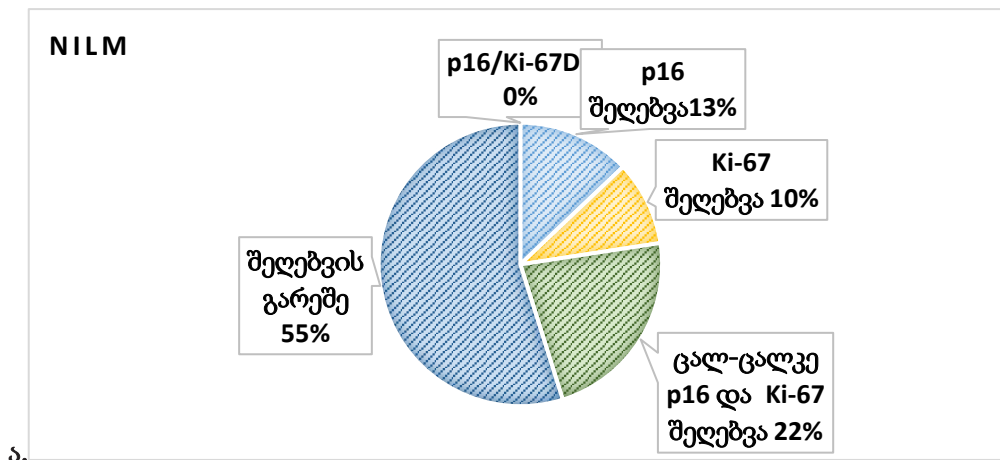
დიაგრამა N9. პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალებში p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგების სიხშირე

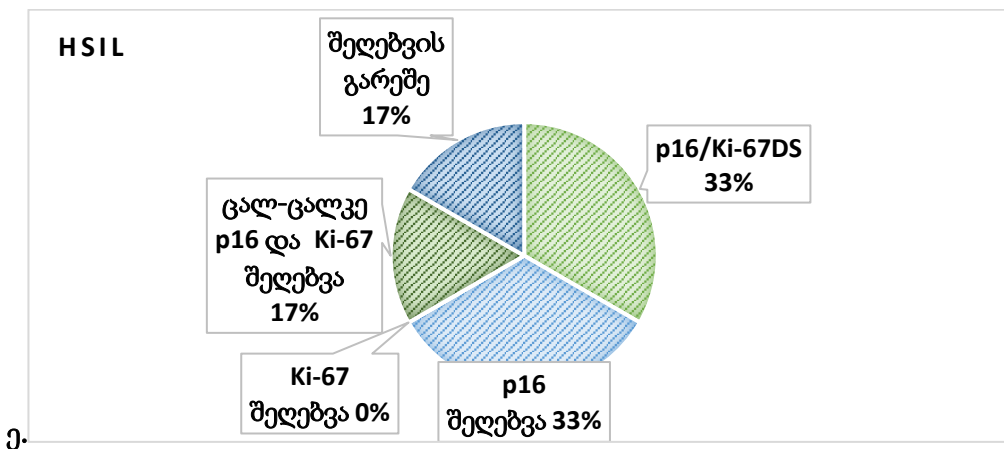
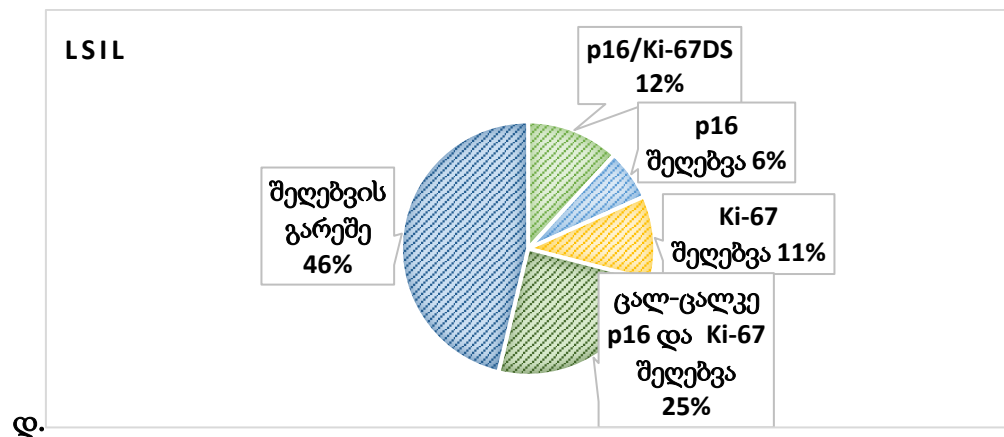
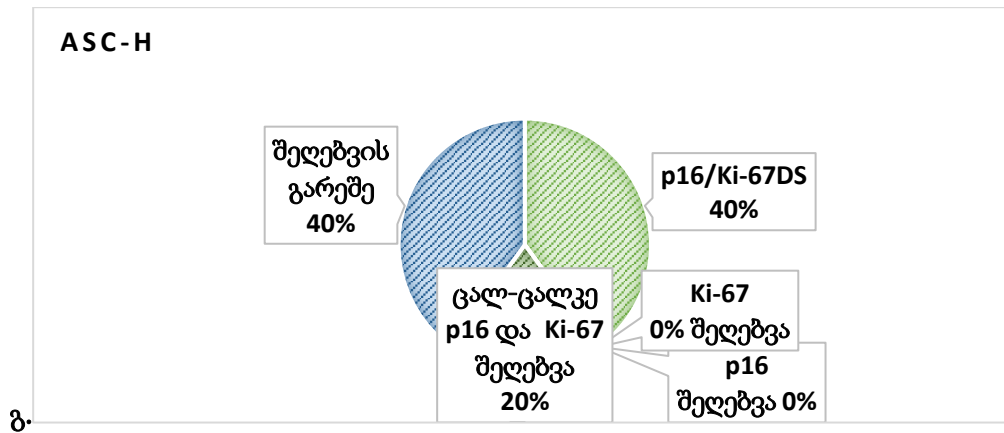
პაპ ტესტის მიხედვით პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალების მხოლოდ 12,2%-ის ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში გამოვლინდა p16/Ki-67 DS-ის დადებითი მაჩვენებელი (დიაგრამა N9).

	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 შეღებვა	4	3	0	6	2	15
Ki-67 შეღებვა	3	0	0	10	0	13
ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შეღებვა	7	13	1	23	1	45
შეღებვის გარეშე	17	10	2	43	1	73
სულ	31	27	5	93	6	162

ცხრილი N10. ცერვიკალური ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და პაპ ტესტის შედეგების განაწილება

პაპ ტესტით სხვადასხვა პათოლოგიური შედეგების მქონე ქალების ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალის p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვით, მარკერების ექსპრესიის მიხედვით კატეგორიების განაწილება მოცემულია ცხრილი N10-სა და დიაგრამა N10ა-ე.



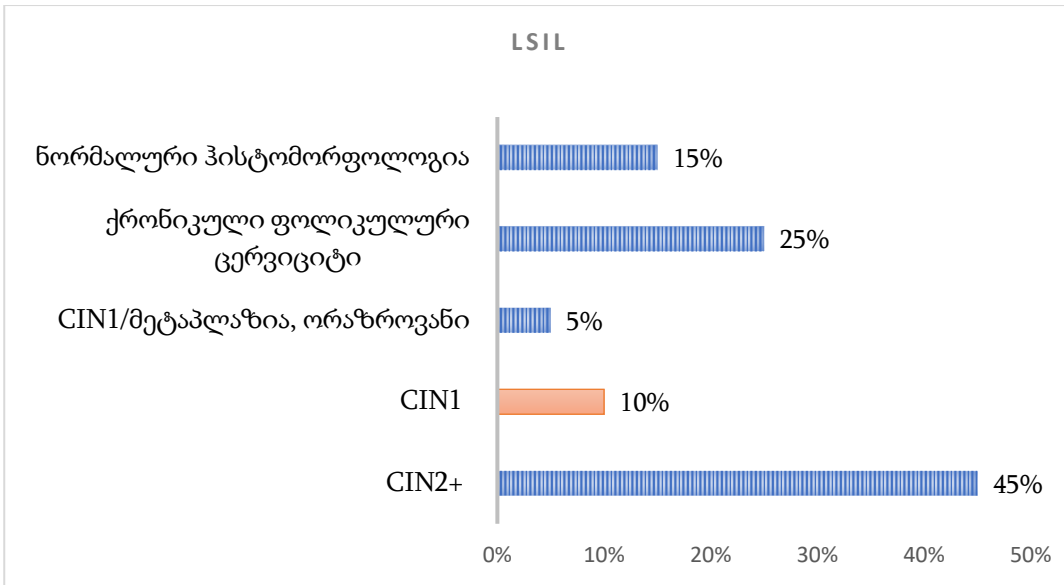


დიაგრამა N10. პაპ ტესტით სხვადასხვა დიაგნოზის მქონე ქალების ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიით შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიების განაწილება, ა-ე

ჩვენს კვლევაში ჩართული ქალების ჰისტოპათოლოგიის და პაპ ტესტის შედეგების განაწილება მოცემულია ცხრილში N11, დიაგრამაზე N11 და დიაგრამაზე N12.

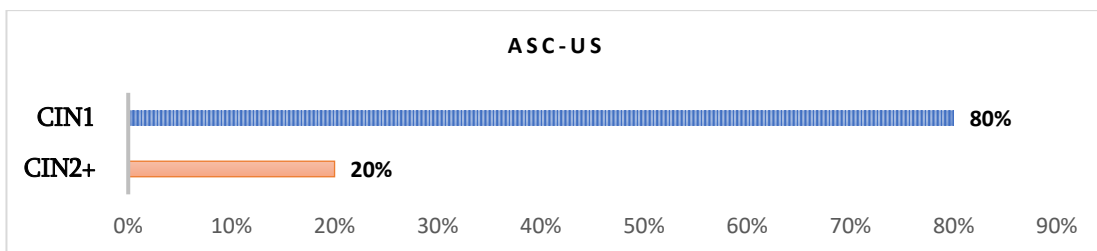
	NILM	ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL	Total
CIN2+		1		9	1	11(37,9%)
CIN1			3	2		5(17,2%)
CIN1/მეტაპლაზია				1		1(3,6%)
ქრონიკული ფოლიკულური ცერვიციტი				5		5(17,2%)
ნორმალური ჰისტომორფოლოგია		4		3		7(24,1%)
სულ	0	5(17,2%)	3(10%)	20(69%)	1(3,4%)	29

ცხრილი N11. პაპ ტესტის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების განაწილება



დიაგრამა N11.

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



დიაგრამა N12.

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

ჩვენი კვლევის მონაცემების მიხედვით, პაპ ტესტისთვის CIN2+-ის აღმოჩენის მგრძობელობა, სპეციფიურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy) იყო 9% და 100%,

85%, 64% და 66% შესაბამისად, დიაგნოზის ოქროს სტანდარტად ჰისტოპათოლოგიის შედეგების გათვალისწინებით (ცხრილი N6). პაპ ტესტით LSIL ჯგუფში ჰისტოპათოლოგიურად CIN1-ის გამოვლენის მგრძობელობა და სპეციფიკურობა იყო 18% და 61% შესაბამისად. პაპ ტესტის შედეგების ერთსა და იმავე კატეგორიის რამდენიმე შემთხვევაში, იმუნოციტოქიმიური შედეგების მიხედვით სხვადასხვა კატეგორიები გამოვლინდა, რაც ნაჩვენებია ცხრილში N11, დიაგრამაზე N10ა-ე.

საშვილოსნოს ყელის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოსაჩენად, p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური და პაპ ციტოლოგიური მეთოდებით საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის გამოკვლევით მიღებული შედეგების შედარებისას კონკორდანტობის დაბალი მაჩვენებელი გამოვლინდა, მონაცემების Cohen's kappa (κ) სტატისტიკური ანალიზის მიხედვით (ცხრილი N12).

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

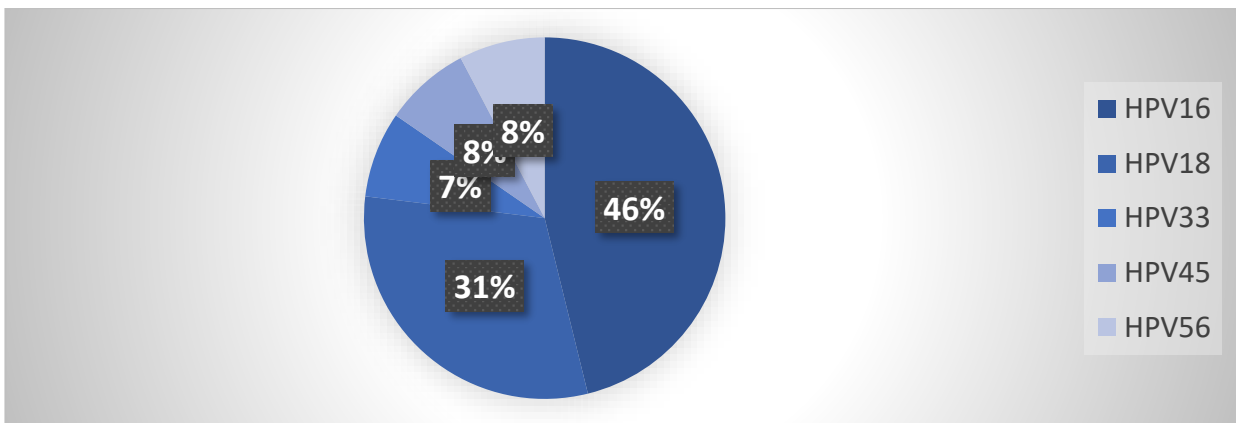
ცხრილი N12. p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიის და პაპ ტესტის შედეგების Cohen's kappa (κ) ანალიზი

ჩვენი კვლევის ფარგლებში 162 ქალიდან 33 შემთხვევაში იყო ხელმისაწვდომი HPV-PCR ტესტის შედეგი. აქედან 7 შემთხვევაში იყო LR-HPV და 8 შემთხვევაში HR-HPV დადებითი PCR შედეგი, ხოლო 18 შემთხვევაში პასუხი უარყოფითი იყო HPV ინფექციაზე. აღნიშნული 33 შემთხვევიდან შესაბამისი ჰისტოპათოლოგიის შედეგი ხელმისაწვდომი იყო 6 შემთხვევაში. p16/Ki-67 DS, HPV PCR, პაპ ტესტის და ჰისტოპათოლოგიური შედეგების დისტრიბუცია მოცემულია ცხრილში N13. სტატისტიკური ანალიზი ვერ განხორციელდა მონაცემების სიმცირის გამო.

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

ცხრილი N13. p16/Ki-67DS, HPV PCR, პაპ ტესტის და და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების დისტრიბუცია

პაპილომა ვირუსული ინფექციის კუთხით, HR-HPV ინფექციის პრევალირებამ ჩვენს კვლევაში შეადგინა 24%. HR-HPV 16,18,33,45 და 56 გენოტიპების პრევალირება მოცემულია დიაგრამაზე N13.



დიაგრამა N13. HR-HPV გენოტიპების პრევალირება

თავი IV

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-პათოლოგიური) 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, გინეკოლოგებთან. 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.

ჩვენს კვლევაში გამოვლინდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი კორელაცია ცერვიკალურ ციტოლოგიურ დიაგნოსტიკურ მასალაში p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიასა და ცერვიკალურ ქსოვილოვან მასალაში H&E

ჰისტოპათოლოგიით მაღალი ხარისხის კიბოსწინარე დაზიანებას (CIN2+) შორის. ცერვიქსის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოსაჩენად, ცერვიქსის ციტოლოგიური დიაგნოსტიკურ მასალაში, ერთსადა იმავე უჯრედში ერთდროულად ორი ბიომარკერის p16/Ki-67 ექსპრესიის (p16/Ki-67DS დადებითი) სენსიტიურობა, სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy), დადებითად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიური მახასიათებლების მიუხედავად, იყო 100%, 89%, 85%, 100% და 93%, შესაბამისად, ($p=2,5 \times 10^{-6} < 0.01$). ცერვიკალური ციტოლოგიურ მასალაში ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიასთან ერთად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიური თავისებურებების შესწავლისას კი გამოვლინდა, რომ ცერვიქსის მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოსაჩენად p16/Ki-67 DS -ის სენსიტიურობა, სპეციფიკურობა, PPV, NPV და სიზუსტე (Accuracy) იყო 91%, 94%, 91% 94% და 93%, შესაბამისად ($p=5.75 \times 10^{-6} < 0.01$). იმუნოციტოქიმიით შეღებილი უჯრედის მორფოლოგიის თავისებურების გათვლისწინებით გაუმჯობესდა კიბოსწინა დაზიანების აღმოჩენის სპეციფიკურობა, PPV და NPV, თუმცა სენსიტიურობა შემცირდა და სიზუსტე (Accuracy) დარჩა უცვლელი. გამოვლინდა „შეცდომა ტიპი I“ (Type I error). ჰისტოპათოლოგიურად მაღალი ხარისხის დისპლაზიის ყველა შემთხვევის შესაბამისი ციტოლოგიური მასალა დადებითი იყო იმუნოციტოქიმიურად p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიაზე. ჩვენი კვლევის შედეგების მიხედვით, ცერვიკალურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ორმაგი ბიომარკერების p16/Ki-67 ექსპრესიას, უჯრედების მორფოლოგიური მახასიათებლების მიუხედავად, მაღალი მგრძობელობა და დიაგნოსტიკური ღირებულება აქვს ციტოლოგიურ სკრინინგში საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების CIN2+(HSIL) აღმოსაჩენად. სხვადასხვა ავტორების მიხედვით p16/ Ki-67 DS კვლევის შედეგები განსხვავებულია, ავტორთა ერთი ჯგუფის, Schmidt და კოლეგების კვლევის მიხედვით (74), ცერვიქსის ციტოლოგიურ დიაგნოსტიკურ მასალაში p16/Ki-67DS იმუნოციტოქიმიას CIN2+ დაზიანების აღმოსაჩენად მაღალი სენსიტიურობა ახასიათებს შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიის მიუხედავად, ხოლო ავტორთა მეორე ჯგუფის, Prevodnik და კოლეგების კვლევის მიხედვით (38), მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოჩენის მაღალი სენსიტიურობა ვლინდება p16/Ki-67 DS და დადებითად შეღებილი უჯრედების ატიპიის არსებობასთან ერთად. სხვადასხვა ავტორების - Ikenberg et al., 2013 (34),

Luttmer et al., 2016 (47), Gajsek et al.,2021 (23) Nkwabong et. al.,2019 (54) - მიერ p16/Ki-67 DS და საშვილოსნოს მაღალი ხარისხის დისპლაზიის თაობაზე კვლევების შედეგები ჩვენი კვლევის შედეგებთან ერთად მოცემულია ცხრილში N14.

	კვლევები	სენსიტიურობა % (95% CI)	სპეციფიკურობა % (95% CI)	PPV %	NPV %
p16/Ki-67 DS	ჩვენი კვლევის შედეგები	100,0%	89,0%	85,0%	100,0%
	Gajsek et. al.2021(23)	88,1%	65,2%	44,6%	94,5%
	Ikenberg et. al.2013(34)	86,7%	95,2%	15,6%	99,9%
	Luttmer et. al.2016(47)	93,8%	51,2%	29,9%	2,6%
პაპ ტესტი	ჩვენი კვლევის შედეგები	9,0%	100,0%	85,0%	64,0%
	Nkwabong et. al.2019(54)	55,5%	75,0%	88,2%	33,3%
	Ikenberg et. al.2013(34)	68,5%	95,4%	13,3%	99,7%

ცხრილი N14. CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა, სპეციფიკურობა, PPV და NPV სხვადასხვა კვლევების მიხედვით.

ჩვენს კვლევის მიხედვით ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ორმაგი p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიისა და საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანებას შორის სარწმუნო დამოკიდებულება გამოვლინდა.

ჩვენს კვლევაში ჩართული ქალების ასაკი 21-დან 65 წლამდე იყო, ხოლო ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ორმაგი p16/Ki-67 ბიომარკერის ექსპრესიაზე 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 კვლევაში (47).

ჩვენი კვლევის ფარგლებში, ორმაგი იმუნოციტოქიმით ცერვიკალური ციტოლოგიური მასალის შესწავლისას, ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის გარდა შედეგის სხვადასხვა კატეგორიების (p16 შედეგა, Ki-67 შედეგა, ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 შედეგა) და უჯრედული ატიპიის ურთიერთკავშირის სტატისტიკურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ ცერიქსის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალის ეპითელურ

უჯრედებში ცალკეული p16 ან Ki-67 ცილების ჭარბი ექსპრესია უჯრედის ბირთვის მიხედვით მორფოლოგიური ცვლილების არსებობაზე არ ახდენს გავლენას, $p > 0,05$. ორმაგი შეღებვისას ციტოლოგიურ მასალაში სხვადასხვა იმუნოშეღებვის კატეგორიების და მორფოლოგიის შესახებ კვლევების შედეგები მწირია. Wentzensen და კოლეგების კვლევის მიხედვით, p16 იმუნოციტოქიმიამ მორფოლოგიურ მახასიათებლებთან ერთად აუმჯობესებს მაღალი ხარისხის ცერვიკალური დისპლაზიის აღმოჩენის შესაძლებლობას (91).

ორმაგი იმუნოციტოქიმიური მეთოდოლოგიის გამოყენებით ციტოლოგიური სადიაგნოსტიკო მასალის სინათლის მიკროსკოპით შესწავლისას, ციტოლოგიურ სლაიდზე იმუნოშეღებვის (p16, Ki-67) და მორფოლოგიური თავისებურებების (უჯრედის ბირთვის და ციტოპლაზმის ფარდობის) მიხედვით სხვადასხვა კატეგორიების გამოვლენასთან ერთად, შესაძლებელი იყო ციტოლოგიურ მასალაში ანთებითი ინფილტრატის გამოვლენა. იმუნოციტოქიმიური შეღებვისას ეპითელური უჯრედების იმუნოშეღებვის 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 ანთების და p16 და/ან Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიაზე გავლენის შესახებ მწირია კვლევები, თუმცა სხვადასხვა ავტორის მიხედვით p16 დადებითი უჯრედების და Ki-67 დადებითი უჯრედების ექსპრესია საშვილოსნოს ყელის ეპითელური უჯრედების მეტაპლაზიის და რეგენერაციის დროს ვლინდება, შესაბამისად (63, 87).

ჩვენს კვლევაში, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ მასალაში 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 შეღებვის სხვადასხვა კატეგორიების არსებობაზე გავლენას არ ახდენს ქალის ასაკი და ანთებითი ინფილტრატების არსებობა. ასევე გამოვლინდა, რომ ციტოლოგიურ მასალაში უჯრედის ბირთვის მორფოლოგიური ცვლილება გავლენას არ ახდენს ცალ-ცალკე p16 და Ki-67 ცილის ჭარბ ექსპრესიაზე. უჯრედებში p16 და Ki-67 ცილების ექსპრესია შესწავლილია სხვადასხვა ავტორების მიერ. Selvam და მისი კოლეგების მიხედვით, ცილა p16 აჩერებს უჯრედის გაყოფას და

მონაწილეობს უჯრედის ფიზიოლოგიური დაბერების პროცესში (76). აქვე მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ ცილა p16 უჯრედში ფიზიოლოგიური პროცესების დროს მცირე რაოდენობით წარმოიქმნება, ამიტომ მისი დეტექცია რუტინული იმუნოშეღებვით ვერ ხერხდება. Duncan და თანაავტორების მიხედვით, p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია ვლინდება უჯრედში HR-HPV პერსისტული ინფექციისას ვირუსული E7 ონკოპროტეინით უჯრედული ცილა Rb-ის დაინჰიბირების გზით (19). Azazmeh და თანაავტორების მიხედვით, ეპითელიურ უჯრედებში p16 ცილის ქრონიკულად ჭარბი ექსპრესია Wnt სასიგნალო კასკადის პარაკრინული სტიმულაციით ააქტიურებს უჯრედების პროლიფერაციას და ხელს უწყობს სიმსივნის განვითარებას (7). გინეკოლოგიურ სიმსივნეებს შორის, Yemelyanova და თანაავტორების მიხედვით, p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია ვლინდება ენდომეტრიუმის მაღალი გრეიდის სეროზული სიმსივნის დროს (95), ხოლო Vang და თანაავტორების მიხედვით, p16 ცილის ჭარბი ექსპრესია ვლინდება საკვერცხის მაღალი გრეიდის სეროზული სიმსივნის დროს (88). Gerdes და კოლეგების კვლევის მიხედვით Ki-67 ექსპრესია უჯრედის ბირთვში ვლინდება მიტოზურად აქტიურ როგორც ნორმალურ ასევე ნეოპლაზურ უჯრედებში (25). Shi და კოლეგების კვლევის თანახმად, უჯრედში Ki-67 ცილის ექსპრესიის ინტენსივობა იზრდება საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ხარისხის შესაბამისად (80). Petry და კოლეგების კვლევის მიხედვით, საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ერთდროულად ორი ცილის p16 და Ki-67 ექსპრესია ვლინდება Pap ნეგატიურ HPV პოზიტიურ ქალებში ჰისტოლოგიურად მაღალი ხარისხის დისპლაზიის დროს (59). 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 მაინჰიბიტორებელი p16 ცილის ჭარბ ექსპრესიას.

ჩვენის კვლევის მიღებული შედეგები გვამლევს იმის მტკიცების შესაძლებლობას, რომ მოლეკულური ცვლილებები წინ უსწრებს ციტო-მორფოლოგიურ ცვლილებებს. მეორეს მხრივ, ციტომორფოლოგიური ცვლილებები ყოველთვის ნეოპლაზიურ

პროცესებს არ უკავშირდება. გამომდინარე აქედან, შეგვიძლია დავასკნათ, რომ უჯრედში რელევანტური ბიომარკერების შესწავლა აუმჯობესებს ციტოლოგიის დიაგნოსტიკურ შესაძლებლობას. აღნიშნული მიგნება, სხვა ფაქტორებთან ერთად, შესაძლოა იყოს ახსნა, თუ რატომ შეიძლება იყოს პაპ ტესტირებისას LSIL ან ASC-US - ის მაღალი შედეგები, მაშინ როცა ბიოფსიური მასალის შეფასებისას SIL არ დასტურდება.

ჩვენს კვლევაში პაპ ციტოლოგიით საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების (CIN2+) აღმოჩენის დაბალი მგრძობელობა გამოვლინდა (ცხრილი N6). პაპ ტესტით პათოლოგიური ცვლილებები გამოვლინდა შემთხვევათა 80,9%-ში, მათგან LSIL, ASC-US, ASC-H და HSIL შედეგები შემდეგნაირად გადანაწილდა: 71%, 20,7%, 3.8% და 4,5%, შესაბამისად. პაპ ტესტის შედეგების პრევალირების მონაცემები Eversole და კოლეგების მიხედვით განსხვავებულია და ASC-US შედეგების სიხშირე ვარირებს 4,3%-დან 65%მდე, და ASC-H სიხშირე 2 -დან 20.9%, LSIL სიხშირე 2% to 27%-მდე, ხოლო HSIL -ის სიხშირე 0,5% -დან 15,6%-მდე (21). ხოლო Arslan და კოლეგების კვლევის მიხედვით, პაპ ტესტის პათოლოგიური შედეგების პრევალირება არის 4,7% ხოლო, ASC-US, LSIL, ASC-H, HSIL კატეგორიების პრევალირება არის 65% ,27%, 3.4%, 2.4%, 1.9% and 0.3%, შესაბამისად (5).

ჩვენი კვლევაში, ციტოლოგიური სკრინინგისას განმეორებით პათოლოგიური SIL და ASC შედეგის მქონე ქალების საშვილოსნოს ყელის ციტოლოგიური მასალის p16/Ki-67 ორმაგი ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლით, ფარულად მიმდინარე მაღალი ხარისხის დისპლაზიის აღმოჩენის შესაძლებლობა გამოვლინდა. p16/Ki-67 DS-ით CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა და სპეციფიკურობა LSIL კატეგორიაში არის 100% და 91%, შესაბამისად. ხოლო ASC (ASC-US და ASC-H) კატეგორიაში არის 100% და 86% შესაბამისად. Schmidt და კოლეგების კვლევის შედეგების მიხედვით, LSIL კატეგორიაში p16/Ki-67 DS-ით CIN2+ აღმოჩენის სენსიტიურობა და სპეციფიკურობა არის 94.2% და 68.0%, შესაბამისად, ხოლო ASC ჯგუფში სენსიტიურობა და სპეციფიკურობა შეადგენს 92.2% და 80.6% შესაბამისად (78).

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 N12).

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 დამაიმედებელი იყოს სკრინინგის ინტერვალის გაზრდის თვალსაზრისით. სკრინინგის თანამედროვე გაიდლაინის მიხედვით, სკრინინგის ინტერვალის ნორმალური შედეგის შემთხვევაში 5 წელიწადს შეადგენს. შემდგომი რანდომიზებული კვლევების შედეგები საინტერესოა ამ კუთხით. Clarke და კოლეგების კვლევის მიხედვით, ქალებს ცერვიკალური ნაცხის p16/Ki-67 DS უარყოფითი შედეგებით CIN2+ ის განვითარების მნიშვნელოვნად დაბალი რისკი აქვთ მომდევნო 5 წლის განმავლობაში (12).

საშვილოსნოს ყელის ორაზროვანი ჰისტოპათოლოგიური დიაგნოზის შემთხვევაში p16 IHC გამოყენება რეკომენდებულია ჯერ კიდევ 2012 წლიდან, შესაბამისი გაიდლაინის მიხედვით (17). ჩვენი კვლევის ფარგლებში, საშვილოსნოს ყელის სამი ორაზროვანი ჰისტოპათოლოგიური ნიმუშის შემთხვევაში p16IHC -ის გამოყენებამ შესაძლებელი გახადა მკაფიოდ მომხდარიყო კიბოსწინარე დაზიანების დიფერენცირება არანეოპლაზიური პროცესებისაგან. ვფიქრობთ, რომ ჰისტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში ბიომარკერების ინტეგრაციით დიაგნოსტიკის გაუმჯობესების მსგავსად, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ მასალაში ბიომარკერების ინტეგრაცია ქმნის შესაძლებლობას, რომ მკაფიოდ, ობიექტური კრიტერიუმებით მოხდეს ნეოპლაზიური უჯრედული ცვლილებების არანეოპლაზიური უჯრედული ცვლილებებისგან დიფერენცირება და ამ შესაძლებლობას უჯრედებში ერთდროულად p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლა იძლევა.

ჩვენი კვლევის მიმდინარეობის პერიოდში, სკრინინგის ოპორტუნისტული ბუნების და HPV-PCR ტესტირების ხელმისაწვდომობაზე შეზღუდვის გათვალისწინებით, მხოლოდ 33 შემთხვევაში იყო HPV -PCR ტესტის შედეგის მოძიება შესაძლებელი (ცხრილი N13, დიაგრამა N13). HR-HPV პრევალირება არის 24%, საიდანაც HPV16 და

18 გენოტიპებმა შემთხვევითა 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 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 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 კიბოსწინარე დაზიანების აღმოჩენის მაღალი მგრძნობელობა გამოვლინდა, შესაძლებელია ვივარაუდოთ HR-HPV ინფექციის მაღალი პრევალირება და HR-HPV PCR ტესტირებით კიბოსწინარე დაზიანების აღმოჩენის დაბალი სპეციფიკურობა, თუმცა რანდომიზებული კვლევების შედეგები ამ კუთხით მნიშვნელოვანია. HPV გენოტიპების გამოვლენა მნიშვნელოვანია ქვეყანებში პრევენციული ღონისძიებების უკეთ დაგეგმისათვის. სხვადასხვა ავტორების მიხედვით HR-HPV გენოტიპების განსაკუთრებით მაღალი პრევალირება ვლინდება განვითარებად ქვეყნებში (10).

ჩვენს კვლევაში ჩართული ქალების სამედიცინო ისტორიების შესწავლის საფუძველზე გამოვლინდა სხვადასხვა კომორბიდული მდგომარეობები, როგორცაა ჰიპერკოაგულაციის სინდრომი, ენდომეტრიოზი, ფარისებრი ჯირკვლის ფოლიკულური ნეოპლაზია, ეუთიროიდული ჩიყვი, კვანძოვანი ჩიყვი, აუტოიმუნური თიროიდიტი, ადენომიოზი, სარძევე ჯირკვლის ფიბროციტური დაავადება, საკვერცხის პოლიკისტოზი, ჰიპერტონული დაავადება, კუჭის წყლული, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1, ატოპიური დერმატიტი, შაკიკი. თითო შემთხვევა იყო HSV 2 IgM და CMV IgM პოზიტიური. ერთ შემთხვევაში კონრაცეპტივების გამოყენების 1-წლიანი, ხოლო მეორე შემთხვევაში 5-წლიანი ისტორია გამოვლინდა. მონაცემების სიმცირიდან გამომდინარე, ზემოთ აღნიშნულ კომორბიდული მდგომარეობების, ცერვიკალურ ეპითელიუმში მორფოლოგიურ ცვლილებების თუ ბიომარკერების ექსპრესიას შორის დამოკიდებულების შესწავლის შესაძლებლობა არ გვქონდა, თუმცა ვფიქრობთ, ცერვიკალური ციტოლოგიის მორფოლოგიასა და ბიომარკერების ექსპრესიის

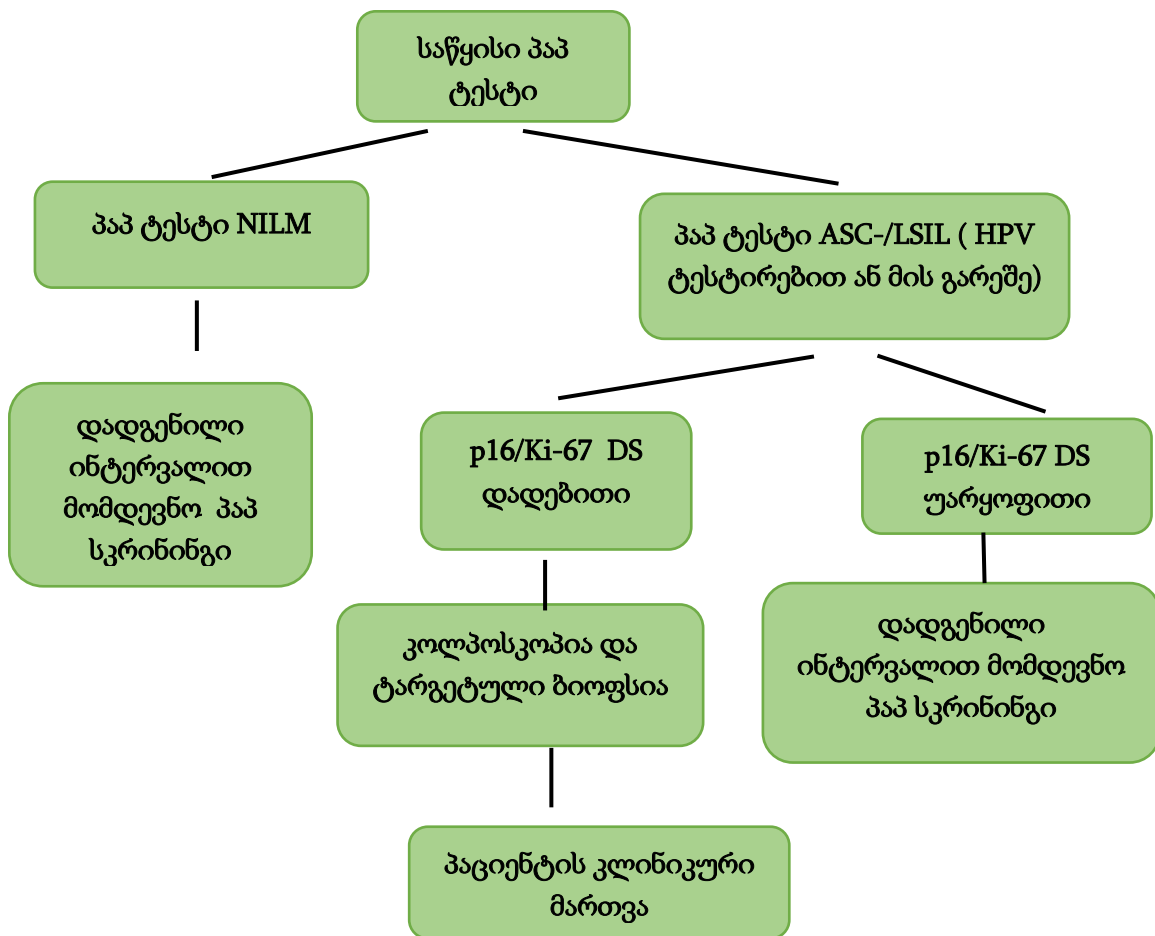
მახასიათებლებზე ქალის კომორბიდული მდგომარეობების ზეგავლენის შესწავლა ახალი კვლევის საფუძველს ქმნის.

ჩვენს კვლევაში განსაკუთრებული ყურადღება მიიქცია დადებითი p16/Ki-67 DS ციტოლოგიური სლაიდის 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 N7). არასაკმარისი მონაცემების გამო, ჩვენს კვლევაში ვერ მოხდა დადგენა, არის თუ არა p16/Ki-67 DS დადებითი იმუნოჰისტოქიმიის 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.

ჩვენს კვლევის შედეგებით გამოვლინდა, რომ საშვილოსნოს ყელის კიბოს ციტოლოგიური სკრინინგისას განმეორებითი პათოლოგიური შედეგების შემთხვევაში, ცერვიკალურ ციტოლოგიურ სადიაგნოსტიკო მასალაში p16/Ki-67 ბიომარკერების ექსპრესიის შესწავლა აუმჯობესებს კიბოსწინარე დაზიანების აღმოჩენის შესაძლებლობას. ამავე დროს ჩვენს კვლევაში გამოვლინდა სკრინინგისას LSIL შედეგის მაღალი სიხშირე, ციტოლოგიური სკრინინგის დაბალი სენსიტიურობა. ჩვენი კვლევის შედეგები, სხვა ავტორების მგავსი ტიპის კვლევების შედარებით მცირე ნიმუშის ზომის და შემთხვევათა რაოდენობის მიუხედავად, შესაძლოა საფუძვლად დაედოს საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების ეტიო-პათოგენეზის და იმუნოფენოტიპის გათვალისწინებით არსებული კლასიფიკაციის დახვეწას (ცხრილი N15), ასევე სკრინინგის გაიდლაინში პაციენტის მართვის ალგორითმის ცვლილებას (დიაგრამა N14), რაც ვფიქრობთ რომ გააუმჯობესებს ციტოლოგიური სკრინინგის გამოსავლებს, განსაკუთრებით პაპ ტესტით ASC/LSIL კატეგორიის ტრიაჟის დროს.

ეტეოპათოგენები	HR-HPV ინფექცია		პერსისტული HR-HPV ინფექციით გამოწვეული უჯრედული დისრეგულაცია	ინვაზიური კარცინომა
პაპ ციტოლოგია	NILM	ASC-US/LSIL	HSIL	ინვაზიური კარცინომა
p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმია	p16/Ki-67 DS უარყოფითი		p16/Ki-67 DS დადებითი	ინვაზიური კარცინომა
H&E ჰისტოპათოლოგია	უარყოფითი	LSIL (CIN 1)	HSIL (CIN 2+)	ინვაზიური კარცინომა
P16 იმუნოჰისტოქიმია	p16 IHC უარყოფითი		p16 IHC დადებითი	ინვაზიური კარცინომა

ცხრილი N15. საშვილოსნოს ყელის კიბოსწინარე დაზიანების კლასიფიკაცია ეტეოპათოგენების და მორფოლოგიურ/იმუნოფენოტიპური მახასიათებლების გათვალისწინებით



დიაგრამა N14. p16 და Ki-67 ბიომარკერების გამოყენებით საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგის მართვის შესაძლო ალგორითმი

ჩვენი კვლევის შეზღუდვები იყო საკვლევი ჯგუფის მოცულობა და შერჩევის შესაძლო ბიაზი. საკვლევი ჯგუფი შედგებოდა საშვილოსნოს ყელის კიბოს ოპორტუნისტული სკრინინგის მონაწილეებისგან, რომლებსაც ჰქონდათ პაპ ტესტით პათოლოგიური შედეგების ისტორია. საშვილოსნოს ყელის 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 კვლევაში ჩართულ ყველა ქალს. თუმცა პაპ ციტოლოგიის განმეორებითი პათოლოგიური შედეგების ან სხვადასხვა სამედიცინო ცენტრიდან არაიდენტური ციტოლოგიური კვლევის შედეგების მიუხედავად, ყველას არ ჰქონდა p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიური გამოკვლევის ჩატარებაზე ხელმისაწვდომობა. 2,5 წლის განმავლობაში ჩვენ შევძელით შეგვესწავლა მხოლოდ 169 ქალის ციტოლოგიური მასალა ორმაგ იმუნოციტოქიმიურ კვლევაზე, აქედან შვიდი ციტოლოგიური სლაიდი არადაამაკმაყოფილებელი 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 3 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, გადავწყვიტეთ 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 სამედიცინო

ცენტრებიდან შეგროვებულ ცერვიკალურ მასალაზე, ხოლო დიაგნოსტიკას ახორციელებდნენ კლინიკური პათოლოგიის მიმართულების დამოუკიდებელი ექსპერტები.

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 მნიშვნელოვნად მაღალია ციტოლოგიურ სკრინინგთან შედარებით. საშვილოსნოს ყელის კიბოს არსებულმა სკრინინგმა მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანა კიბოს პრევენციაში, თუმცა პაპ ტესტის დაბალი სენსიტიურობა, არსებული ციტო-ჰისტოპათოლოგიური კლასიფიკაციის სირთულე და ნაკლები შესაბამისობა, ასევე PCR-HPV დაბალი სპეციფიურობა და HPV ინფექციის მაღალი პრევალირება კვლავ გამოწვევად რჩება როგორც კლინიცისტებისთვის, ასევე პაციენტებისთვის. ციტოპათოლოგიაში ბიომარკერების ინტეგრაცია შეიძლება იყოს მნიშვნელოვანი დიაგნოსტიკური შესაძლებლობის გაუმჯობესების კუთხით, რათა გადაიჭრას ის სირთულეები, რაც დაკავშირებულია ნეოპლაზური და არანეოპლაზურ პროცესების დიფერენცირებასთან. საშვილოსნოს ყელის კიბოს სკრინინგში p16/Ki-67 DS 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 არასაჭირო ინტერვენციების სიხშირეს და მასთან დაკავშირებულ რეპროდუქციული ჯანმრთელობის პრობლემებს. ერთი ტესტის მაღალი ღირებულების მიუხედავად, p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმია შეიძლება იყოს ეფექტური გრძელვადიან პერსპექტივაში, განსაკუთრებით პაპ 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, ბეტესდა 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, LSIL 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, პაპ 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 ინფილტარცია).

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.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Ac B. Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. *J Am Med Assoc.* 1932;99:1670-4.
2. Agoff SN, Lin P, Morihara J, Mao C, Kiviat NB, Koutsky LA. p16INK4a expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Modern Pathology.* 2003 Jul 1;16(7):665-73.
3. Anisimová E, Barták P, Vlček D, Hirsch I, Břicháček B, Vonka V. Presence and type specificity of papillomavirus antibodies demonstrable by immunoelectron microscopy tests in samples from patients with warts. *Journal of general virology.* 1990 Feb;71(2):419-22.
4. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C, Raifu AO, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Paraskevaidis E. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *Bmj.* 2008 Sep 18;337.
5. Arslan E, Gokdagli F, Bozdog H, Vatansever D, Karsy M. Abnormal Pap smear frequency and comparison of repeat cytological follow-up with colposcopy during patient management: the importance of pathologist's guidance in the management. *Northern clinics of Istanbul.* 2019 Jan 1;6(1).
6. Ault KA. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections in the female genital tract. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology.* 2006 Jan 1;2006.
7. Azazmeh N, Assouline B, Winter E, Ruppó S, Nevo Y, Maly A, Meir K, Witkiewicz AK, Cohen J, Rizou SV, Pikarsky E. Chronic expression of p16INK4a in the epidermis induces Wnt-mediated hyperplasia and promotes tumor initiation. *Nature communications.* 2020 Jun 1;11(1):2711.
8. Bergeron C, von Knebel Doeberitz M. The role of cytology in the 21st century: the integration of cells and molecules. *Acta Cytologica.* 2016 Dec 8;60(6):540-2.
9. Burchell AN, Winer RL, de Sanjosé S, Franco EL. Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine.* 2006 Aug 21;24:S52-61.
10. Burk RD, Harari A, Chen Z. Human papillomavirus genome variants. *Virology.* 2013 Oct 1;445(1-2):232-43.
11. Chan CK, Aimagambetova G, Ukybassova T, Kongrtay K, Azizan A. Human papillomavirus infection and cervical cancer: epidemiology, screening, and vaccination—review of current perspectives. *Journal of oncology.* 2019 Oct 10;2019.
12. Clarke MA, Cheung LC, Castle PE, Schiffman M, Tokugawa D, Poitras N, Lorey T, Kinney W, Wentzensen N. Five-year risk of cervical precancer following p16/Ki-67 dual-stain triage of HPV-positive women. *JAMA oncology.* 2019 Feb 1;5(2):181-6.
13. Clifford G, Franceschi S, Diaz M, Muñoz N, Villa LL. HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine.* 2006 Aug 21;24:S26-34.

14. Cocker J, Fox H, Langley FA. Consistency in the histological diagnosis of epithelial abnormalities of the cervix uteri. *Journal of Clinical Pathology*. 1968 Jan;21(1):67.
15. Colgan TJ, Woodhouse SL, Styer PE, Kennedy M, Davey DD. Reparative changes and the false-positive/false-negative Papanicolaou test: a study from the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2001 Jan 1;125(1):134-40.
16. Cullen TS. *Cancer of the uterus: its pathology, symptomatology, diagnosis, and treatment*. Appleton; 1900.
17. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, McCalmont T, Nayar R, Palefsky JM, Stoler MH, Wilkinson EJ. The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2012 Oct 1;136(10):1266-97.
18. Doorbar J. Host control of human papillomavirus infection and disease. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2018 Feb 1;47:27-41.
19. Duncan LD, Winkler M, Carlson ER, Heidel RE, Kang E, Webb D. p16 immunohistochemistry can be used to detect human papillomavirus in oral cavity squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2013 Aug 1;71(8):1367-75.
20. Elgert PA, Gill GW. George N. Papanicolaou, MD, PhD: cytopathology. *Laboratory Medicine*. 2009 Apr 1;40(4):245-6.
21. Eversole GM, Moriarty AT, Schwartz MR, Clayton AC, Souers R, Fatheree LA, Chmara BA, Tench WD, Henry MR, Wilbur DC. Practices of participants in the college of american pathologists interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology, 2006. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2010 Mar 1;134(3):331-5.
22. Fu YS, Huang I, Beaudenon S, Ionesco M, Barrasso R, de Brux J, Orth G. Correlative study of human papillomavirus DNA, histopathology and morphometry in cervical condyloma and intraepithelial neoplasia. *International Journal of Gynecological Pathology: Official Journal of the International Society of Gynecological Pathologists*. 1988 Jan 1;7(4):297-307.
23. Gajsek US, Dovnik A, Takac I, Ivanus U, Jerman T, Zatler SS, Fokter AR. Diagnostic performance of p16/Ki-67 dual immunostaining at different number of positive cells in cervical smears in women referred for colposcopy. *Radiology and Oncology*. 2021 Dec 1;55(4):426-32.
24. Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad H. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *The American journal of pathology*. 1991 Apr;138(4):867.

25. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *International journal of cancer*. 1983 Jan 15;31(1):13-20.
26. Gibb RK, Martens MG. The impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer. *Reviews in Obstetrics and Gynecology*. 2011;4(Suppl 1):S2.
27. Habbema D, Weinmann S, Arbyn M, Kamineni A, Williams AE, MCM de Kok I, van Kemenade F, Field TS, van Rosmalen J, Brown ML. Harms of cervical cancer screening in the United States and the Netherlands. *International journal of cancer*. 2017 Mar 1;140(5):1215-22.
28. Herfs M, Yamamoto Y, Laury A, Wang X, Nucci MR, McLaughlin-Drubin ME, Münger K, Feldman S, McKeon FD, Xian W, Crum CP. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012 Jun 26;109(26):10516-21.
29. <http://www.asccp.org>. (2023)
30. <https://cervixca.nlm.nih.gov/RiskTables/> (2023)
31. <https://test.ncdc.ge/Handlers/GetFile.ashx?ID=c33853f2-73bc-4bbe-841d-43bfa4fe7dca> (2023)
32. <https://www.cdc.gov/vaccines/vpd/hpv/public/index.html> (2023)
33. <https://www.who.int/news-room/events/detail/2021/07/06/default-calendar/reaching-2030-cervical-cancer-elimination-targets> (2023)
34. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C, Bogers J, Dachez R, Denton K, Hariri J, Keller T. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013 Oct 15;105(20):1550-7.
35. Kamolratanakul S, Pitisuttithum P. Human papillomavirus vaccine efficacy and effectiveness against cancer. *Vaccines*. 2021 Nov 30;9(12):1413.
36. Keating JT, Cviko A, Riethdorf S, Riethdorf L, Quade BJ, Sun D, Duensing S, Sheets EE, Munger K, Crum CP. Ki-67, cyclin E, and p16 INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia. *The American journal of surgical pathology*. 2001 Jul 1;25(7):884-91.
37. Kim TH, Han JH, Shin E, Noh JH, Kim HS, Song YS. Clinical implication of p16, Ki-67, and proliferating cell nuclear antigen expression in cervical neoplasia: improvement of diagnostic accuracy for high-grade squamous intraepithelial lesion and prediction of resection margin involvement on conization specimen. *Journal of cancer prevention*. 2015 Mar;20(1):70.
38. Kloboves Prevodnik V, Jerman T, Nolde N, Repše Fokter A, Jezeršek S, Pohar Marinšek Ž, Klopčič U, Hutter Čelik S, Gornik Kramberger K, Primic Žakelj M, Ivanuš U. Interobserver

- variability and accuracy of p16/Ki-67 dual immunocytochemical staining on conventional cervical smears. *Diagnostic Pathology*. 2019 Dec;14(1):1-9.
39. Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, Bryant A, Martin-Hirsch PP, Mustafa RA, Schünemann H, Paraskevaidis E, Arbyn M. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane database of systematic reviews*. 2017(8).
 40. Kolstad P, Klem V. Long-term followup of 1121 cases of carcinoma in situ. *Obstetrics and Gynecology*. 1976 Aug 1;48(2):125-9.
 41. Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1956 Mar;63(6):1245-61.
 42. Koss LG. Dysplasia. A real concept or a misnomer?. *Obstetrics and Gynecology*. 1978 Mar 1;51(3):374-9.
 43. Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, Kovalev GI, Al-Regaiey K, Su L, Sharpless NE. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *The Journal of clinical investigation*. 2004 Nov 1;114(9):1299-307.
 44. Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2017). *Robbins Basic Pathology* (10th ed.). Elsevier - Health Sciences Division.p. 998-100. Kumar V, Abbas A, Aster JC, editors. Robbins basic pathology e-book. Elsevier Health Sciences; 2017 Mar 8.
 45. Kurman RJ. Tumors of the cervix, vagina, and vulva. *Atlas of tumor pathology*. 1992;4.
 46. Lambert AP, Anschau F, Schmitt VM. p16INK4A expression in cervical premalignant and malignant lesions. *Experimental and molecular pathology*. 2006 Apr 1;80(2):192-6.
 47. Luttmmer R, Dijkstra MG, Snijders PJ, Berkhof J, van Kemenade FJ, Rozendaal L, Helmerhorst TJ, Verheijen RH, Ter Harmsel WA, van Baal WM, Graziosi PG. p16/Ki-67 dual-stained cytology for detecting cervical (pre) cancer in a HPV-positive gynecologic outpatient population. *Modern Pathology*. 2016 Aug 1;29(8):870-8.
 48. McDonald AC, Tergas AI, Kuhn L, Denny L, Wright Jr TC. Distribution of human papillomavirus genotypes among HIV-positive and HIV-negative women in Cape Town, South Africa. *Frontiers in oncology*. 2014 Mar 14;4:48.
 49. Meisels A, Fortin R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. *Acta cytologica*. 1976 Nov 1;20(6):505-9.
 50. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer*. 2010 Aug;10(8):550-60.
 51. Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus research*. 2002 Nov 1;89(2):213-28.

52. Münger K, Werness BA, Dyson N, Phelps WC, Harlow E, Howley PM. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *The EMBO journal*. 1989 Dec;8(13):4099-105.
53. Nayar R, Wilbur DC, editors. *The Bethesda system for reporting cervical cytology: definitions, criteria, and explanatory notes*. Springer; 2015 Apr 13.
54. Nkwabong E, Laure Bessi Badjan I, Sando Z. Pap smear accuracy for the diagnosis of cervical precancerous lesions. *Tropical Doctor*. 2019 Jan;49(1):34-9.
55. Passegué E, Wagner EF. JunB suppresses cell proliferation by transcriptional activation of p16INK4a expression. *The EMBO journal*. 2000 Jun 15;19(12):2969-79.
56. Pemberton FA, Smith GV. The early diagnosis and prevention of carcinoma of the cervix: A clinical pathologic study of borderline cases treated at the Free Hospital for Women. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1929 Feb 1;17(2):165-76.
57. Perkins RB, Guido RS, Castle PE, Chelmow D, Einstein MH, Garcia F, Huh WK, Kim JJ, Moscicki AB, Nayar R, Saraiya M. 2019 ASCCP risk-based management consensus guidelines for abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Journal of lower genital tract disease*. 2020 Apr;24(2):102.
58. Petry KU, Cox JT, Johnson K, Quint W, Ridder R, Sideri M, Wright Jr TC, Behrens CM. Evaluating HPV-negative CIN2+ in the ATHENA trial. *International journal of cancer*. 2016 Jun 15;138(12):2932-9.
59. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, Luyten A, Reinecke-Lüthge A, Bergeron C, Kommos F, Löning T, Ordi J, Regauer S, Ridder R. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecologic oncology*. 2011 Jun 1;121(3):505-9.
60. Practice Bulletin No. 131, *Obstetrics & Gynecology*: November 2012 - Volume 120 - Issue 5 - p 1222-1238.
61. Rayess H, Wang MB, Srivatsan ES. Cellular senescence and tumor suppressor gene p16. *International journal of cancer*. 2012 Apr 15;130(8):1715-25.
62. Rebolj M, Pribac I, Eiholm Frederiksen M, Lynge E. The problem of false-positive human papillomavirus DNA tests in cervical screening. *Current pharmaceutical design*. 2013 Mar 1;19(8):1439-49.
63. Regauer S, Reich O. CK17 and p16 expression patterns distinguish (atypical) immature squamous metaplasia from high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN III). *Histopathology*. 2007 Apr;50(5):629-35.
64. Reuschenbach M, Waterboer T, Wallin KL, Eienkel J, Dillner J, Hamsikova E, Eschenbach D, Zimmer H, Heilig B, Kopitz J, Pawlita M. Characterization of humoral immune responses against

- p16, p53, HPV16 E6 and HPV16 E7 in patients with HPV-associated cancers. *International journal of cancer*. 2008 Dec 1;123(11):2626-31.
65. Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol. Annu.* 1973;8:301-28.
 66. Ronco G, Arbyn M, Meijer CJ, Snijders PJ, Cuzick J. Screening for cervical cancer with primary testing for human papillomavirus. *European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening*. 2nd ed. Suppl. 2015;1:1-68.
 67. Roura Fornells E, Travier N, Waterboer T, Sanjosé Llongueras SD, Bosch José FX, Pawlita M, Pala V, Weiderpass E, Margall N, Dillner J, Gram IT. The Influence of Hormonal Factors on the Risk of Developing Cervical Cancer and Pre-Cancer: Results from the EPIC Cohort. *PLoS One*, 2016, vol. 11, num. 1, p. e0147029.
 68. Sadler L, Saftlas A, Wang W, Exeter M, Whittaker J, McCowan L. Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery. *Jama*. 2004 May 5;291(17):2100-6.
 69. Samson SL, Bentley JR, Fahey TJ, McKay DJ, Gill GH. The effect of loop electrosurgical excision procedure on future pregnancy outcome. *Obstetrics & Gynecology*. 2005 Feb 1;105(2):325-32.
 70. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, Garcia FA, Moriarty AT, Waxman AG, Wilbur DC, Wentzensen N. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *American journal of clinical pathology*. 2012 Apr 1;137(4):516-42.
 71. SCHEURER ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2005 Sep 8;15(5).
 72. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *The lancet*. 2007 Sep 8;370(9590):890-907.
 73. Schiller JT, Day PM, Kines RC. Current understanding of the mechanism of HPV infection. *Gynecologic oncology*. 2010 Jun 1;118(1):S12-7.
 74. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R, European CINtec Cytology Study Group. p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. *Cancer cytopathology*. 2011 Jun 25;119(3):158-66.
 75. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal of cellular physiology*. 2000 Mar;182(3):311-22.
 76. Selvam SP, Roth BM, Nganga R, Kim J, Cooley MA, Helke K, Smith CD, Ogretmen B. Balance between senescence and apoptosis is regulated by telomere damage–induced association between p16 and caspase-3. *Journal of Biological Chemistry*. 2018 Jun 1;293(25):9784-800.

77. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *nature*. 1993 Dec 16;366(6456):704-7.
78. Serrano M. The tumor suppressor protein p16INK4a. *Experimental cell research*. 1997 Nov 25;237(1):7-13.
79. Sherman ME, Tabbara SO, Scott DR, Kurman RJ, Glass AG, Manos MM, Burk RD, Rush BB, Schiffman M. " ASCUS, rule out HSIL": cytologic features, histologic correlates, and human papillomavirus detection. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 1999 Apr 1;12(4):335-42.
80. Shi Q, Xu L, Yang R, Meng Y, Qiu L. Ki-67 and P16 proteins in cervical cancer and precancerous lesions of young women and the diagnostic value for cervical cancer and precancerous lesions. *Oncology letters*. 2019 Aug 1;18(2):1351-5.
81. Smith JS, Green J, de Gonzalez AB, Appleby P, Peto J, Plummer M, Franceschi S, Beral V. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. *The Lancet*. 2003 Apr 5;361(9364):1159-67.
82. Sobecki M, Mrouj K, Colinge J, Gerbe F, Jay P, Krasinska L, Dulic V, Fisher D. Cell-cycle regulation accounts for variability in Ki-67 expression levels. *Cancer research*. 2017 May 15;77(10):2722-34.
83. Stuebs FA, Schulmeyer CE, Mehlhorn G, Gass P, Kehl S, Renner SK, Renner SP, Geppert C, Adler W, Hartmann A, Beckmann MW. Accuracy of colposcopy-directed biopsy in detecting early cervical neoplasia: a retrospective study. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2019 Feb 5;299:525-32.
84. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021 May;71(3):209-49.
85. Szarewski A, Maddox P, Royston P, Jarvis M, Anderson M, Guillebaud J, Cuzick J. The effect of stopping smoking on cervical Langerhans' cells and lymphocytes. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2001 Mar 1;108(3):295-303.
86. The (1988) Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Developed and approved at a National Cancer Institute Workshop, Bethesda, 12–13, 1988 Dec. 1988;11(5):291–297.
87. Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, Wentzensen N, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Malamou-Mitsi V, Paraskevaidis E. p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer treatment reviews*. 2009 May 1;35(3):210-20.

88. Vang R, Shih IM, Kurman RJ. Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. *Advances in anatomic pathology*. 2009 Sep;16(5):267.
89. von Knebel Doeberitz M. New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. *European journal of cancer*. 2002 Nov 1;38(17):2229-42.
90. Watson RA. Human papillomavirus: confronting the epidemic—a urologist’s perspective. *Reviews in urology*. 2005;7(3):135.
91. Wentzensen N, Bergeron C, Cas F, Eschenbach D, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Evaluation of a nuclear score for p16INK4a-stained cervical squamous cells in liquid-based cytology samples. *Cancer Cytopathology*. 2005 Dec 25;105(6):461-7.
92. Williams J. *On cancer of the uterus: being the Harveian Lectures for 1886*. HK Lewis; 1888.
93. Wright Jr TC, Schiffman M. Adding a test for human papillomavirus DNA to cervical-cancer screening. *New England Journal of Medicine*. 2003 Feb 6;348(6):489-90.
94. Wright T.C., Ronnett B.M., Kurman R.J. Precancerous Lesions of the Cervix. In: Kurman R., Hedrick Ellenson L., Ronnett B. (eds) *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. Springer, (2019) p. 240-303.
95. Yemelyanova A, Ji H, Shih IM, Wang TL, Ronnett BM. Utility of p16 expression for distinction of uterine serous carcinomas from endometrial endometrioid and endocervical adenocarcinomas: immunohistochemical analysis of 201 cases. *The American journal of surgical pathology*. 2009 Oct 1;33(10):1504-14.
96. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature reviews cancer*. 2002 May 1;2(5):342-50.
97. Zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers—a brief historical account. *Virology*. 2009 Feb 20;384(2):260-5.

დანართები

p16/Ki-67 DS* CIN2+ Crosstabulation

Count

		CIN2+		Total
		No	Yes	
p16/Ki-67DS	No	16	0	16
	Yes	2	11	13
Total		18	11	29

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	21.812 ^a	1	3,00719E-06		
Continuity Correction ^b	18,366	1	1,82282E-05		
Likelihood Ratio	27,334	1	1,71203E-07		
Fisher's Exact Test				2,25451E-06	2,25451E-06
Linear-by-Linear Association	21,060	1	4,45163E-06		
N of Valid Cases	29				

დანართი N1. განურჩევლად შეღებილი უჯრედების მორფოლოგიისა p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების ჯვარედინი ტაბულაცია და სტატისტიკური ანალიზი

CIN2+ * p16/Ki-67DS with atypia Crosstabulation

Count

		p16/Ki-67 DS with_atypia		Total
		0	1	
CIN2+	0	17	1	18
	1	1	10	11
Total		18	11	29

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	21.127 ^a	1	4,29794E-06	5,7519E-06	5,7519E-06
Continuity Correction ^b	17,657	1	2,64497E-05		
Likelihood Ratio	24,070	1	9,28985E-07		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	20,399	1	6,28747E-06		
N of Valid Cases	29				

a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.17.

b. Computed only for a 2x2 table

დანართი N2. შეღებული უჯრედების მორფოლოგიის გათვალისწინებით p16/Ki-67 DS იმუნოციტოქიმიის და H&E ჰისტოპათოლოგიის შედეგების ჯვარედინი ტაბულაცია და სტატისტიკური ანალიზი

p16/Ki-67 DS * age category			p16/Ki-67 DS		Total
			No	Yes	
Age Category	21-28	Count	21	1	22
		% within Age Category	95,5%	4,5%	100,0%
		% within p16/Ki-67	14,4%	6,3%	13,6%
	29-35	Count	44	5	49
		% within Age Category	89,8%	10,2%	100,0%
		% within p16/Ki-67	30,1%	31,3%	30,2%
	36-45	Count	60	6	66
		% within Age Category	90,9%	9,1%	100,0%
		% within p16/Ki-67	41,1%	37,5%	40,7%
	46-52	Count	14	3	17
		% within Age Category	82,4%	17,6%	100,0%
		% within p16/Ki-67	9,6%	18,8%	10,5%
	53-65	Count	7	1	8
		% within Age Category	87,5%	12,5%	100,0%
		% within p16/Ki-67	4,8%	6,3%	4,9%
Total		Count	146	16	162
		% within Age Category	90,1%	9,9%	100,0%
		% within p16/Ki-67	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1.969 ^a	4	0,741
Likelihood Ratio	1,930	4	0,749
Linear-by-Linear Association	1,051	1	0,305
N of Valid Cases	162		

a. 4 cells (40.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .79.

დანართი N3. p16/Ki-67 DS დადებითი შედეგები vs ქალების ასაკი, სტატისტიკური ანალიზი

p16 staining* atypia Crosstabulation

Count		atypia		Total
		0	1	
total p16	0	82	20	102
	1	46	14	60
Total		128	34	162

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	0.316 ^a	1	0,574		
Continuity Correction ^b	0,131	1	0,717		
Likelihood Ratio	0,313	1	0,576		
Fisher's Exact Test				0,690	0,355
Linear-by-Linear Association	0,314	1	0,575		
N of Valid Cases	162				

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12.59.

b. Computed only for a 2x2 table

დანართი N4. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, **p16** შედეგების კატეგორია **vs** უჯრედული ატიპია, სტატისტიკური ანალიზი.

Ki-67 staining * atypia Crosstabulation

Count		atypia		Total
		0	1	
total Ki-67	0	83	21	104
	1	45	13	58
Total		128	34	162

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	0.111 ^a	1	0,739	
Continuity Correction ^b	0,017	1	0,895	
Likelihood Ratio	0,110	1	0,740	
Fisher's Exact Test				0,841
Linear-by-Linear Association	0,110	1	0,740	
N of Valid Cases	162			

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12.17.

b. Computed only for a 2x2 table

დანართი N5. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, **Ki-67** შედეგების კატეგორია **vs** უჯრედული ატიპია, სტატისტიკური ანალიზი

p16 and Ki-67 staining category * atypia Crosstabulation

Count		atypia		Total
		0	1	
p16 and Ki-67 category	0	93	24	117
	1	35	10	45
Total		128	34	162

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	0.057 ^a	1	0,811	0,831	0,483
Continuity Correction ^b	0,001	1	0,981		
Likelihood Ratio	0,057	1	0,812		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	0,057	1	0,811		
N of Valid Cases	162				

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9.44.

b. Computed only for a 2x2 table

დანართი N6. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, ცალ-ცალკე **p16** და **Ki-67** შედეგების კატეგორია **vs** უჯრედული ატიპია, სტატისტიკური ანალიზი

p16 * inflammation Crosstabulation

Count		inflammation		Total
		0	1	
total p16	0	63	39	102
	1	32	28	60
Total		95	67	162

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.107 ^a	1	0,293	0,324	0,187
Continuity Correction ^b	,787	1	0,375		
Likelihood Ratio	1,103	1	0,294		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	1,100	1	0,294		
N of Valid Cases	162				

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 24.81.

b. Computed only for a 2x2 table

დანართი N 7. p16/Ki-67 DS უარყოფითი, p16 შედეგების კატეგორია **vs** ანთეზა, სტატისტიკური ანალიზი

total Ki-67 * inflammation Crosstabulation

Count

		inflammation		Total
		0	1	
total Ki- 67	0	65	39	104
	1	30	28	58
Total		95	67	162

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.783 ^a	1	0,182	0,188	0,121
Continuity Correction ^b	1,366	1	0,242		
Likelihood Ratio	1,775	1	0,183		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	1,772	1	0,183		
N of Valid Cases	162				

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 23.99.

b. Computed only for a 2x2 table

დანართი N 8. p16/Ki67 DS უარყოფითი, **Ki-67** შედეგების კატეგორია **vs** ანთება, სტატისტიკური ანალიზი

p16 and Ki-67 category * atypia Crosstabulation

Count

		atypia		Total
		0	1	
p16 and Ki-67 category	0	93	24	117
	1	35	10	45
Total		128	34	162

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	0.057 ^a	1	0,811	0,831	0,483
Continuity Correction ^b	0,001	1	0,981		
Likelihood Ratio	0,057	1	0,812		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	0,057	1	0,811		
N of Valid Cases	162				

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9.44.

b. Computed only for a 2x2 table

დანართი N 9. p16/Ki67 DS უარყოფითი, ცალ-ცალკე **p16** და **Ki-67** შედეგების კატეგორია **vs** ანთება, სტატისტიკური ანალიზი