

DOI: 10.26693/jmbs07.03.052

УДК 618.193-006.04-091.8:576.52

Волос Л. І.¹, Дудаш А. П.^{1,2}

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ МОЛЕКУЛ КЛІТИННОЇ АДГЕЗІЇ Е-КАДГЕРИНУ В РІЗНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ПІДТИПАХ ІНВАЗИВНОГО ПРОТОКОВОГО РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

²Західноукраїнська гістологічна лабораторія, Львів, Україна

Метою дослідження було визначити роль Е-кадгерину у розвитку та прогресуванні молекулярних підтипів інвазивного протокового раку грудної залози шляхом оцінки експресії Е-кадгерину при різних клініко-патологічних прогностичних параметрах.

Матеріали та методи. Проведене комплексне морфологічне, в тому числі імуногістохімічне дослідження 193 випадків інвазивного протокового раку грудної залози з визначенням молекулярного фенотипу. Загальногістологічна обробка зразків виконувалася відповідно до стандартної методики. Імуногістохімічні дослідження для Е-кадгерину, ER, PR, c-erbB2, Ki-67 проводилися відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюми. Ступінь злоякісності визначався за модифікованою схемою P. Scarff, H. Bloom і W. Richardson. Експресію Е-кадгерину оцінювали напівкількісно у 86 спостереженнях за допомогою системи підрахунку Qureshi. Порівняння експресії Е-кадгерину при різних клініко-патологічних параметрах оцінювали за допомогою критерію Пірсона χ^2 . Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати. Експресія Е-кадгерину в тканині протокового раку грудної залози значно нижча за наявності метастазів у лімфатичні вузли, ніж без метастатичного ураження лімфатичних вузлів ($\chi^2 = 4,55$, $p = 0,031$). Низька експресія Е-кадгерину чи її відсутність асоціювалася з пухлинами pT3, 3 клінічною стадією захворювання, зі ступенями злоякісності G2 і G3. Втрата експресії Е-кадгерину має несприятливе прогностичне значення. Експресія Е-кадгерину асоціюється з молекулярним типом інвазивної протокової карциноми грудної залози. Висока експресія Е-кадгерину була поширеною в ER-позитивних пухлинах люмінального А фенотипу і визначалася у пацієнток як пременопаузального, так і постменопаузального віку,

що вказує на те, що ER-позитивна експресія може брати участь у регуляції експресії Е-кадгерину. Низька пухлинна активність клітин інвазивного протокового раку грудної залози люмінального підтипу супроводжується підвищенням адгезивних властивостей цих клітин за рахунок високого рівня експресії Е-кадгерину.

Е-кадгерин вважається незалежним маркером потрібно-негативного раку грудної залози і характеризується несприятливим прогнозом і короткою тривалістю життя хворих. Потрібно-негативний рак асоціювався з достовірним переважанням пацієнток з низькою і негативною експресією Е-кадгерину ($p = 0,011$).

Висновки. Таким чином, Е-кадгерин є потужним пухлинним супресором раку грудної залози. Відповідно до цієї ролі в прогресуванні раку грудної залози, було виявлено, що часткова або повна втрата експресії Е-кадгерину корелює з несприятливим прогнозом у пацієнтів.

Ключові слова: інвазивний протоковий рак грудної залози, експресія Е-кадгерину, прогноз.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано згідно НДР кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Вивчення патоморфологічних особливостей захворювань щитоподібної залози, серцево-судинної, травної, сечовидільної та репродуктивної систем і перинатального періоду з метою удосконалення їх морфологічної діагностики», № державної реєстрації 0118U000100.

Вступ. Рак грудної залози (РГЗ) є найбільш часто діагнованим раком у жінок і займає друге місце серед причин смерті від цієї злоякісної патології. За даними ВООЗ головною метою боротьби з раком грудної залози є зниження глобальної смертності від новоутвору на 2,5% на рік,

запобігаючи тим самим 2,5 мільйонам смертей від раку грудної залози в усьому світі в період між 2020 і 2040 роками. Зменшення глобальної смертності від раку грудної залози на 2,5% на рік дозволить уникнути 25% смертей до 2030 року і 40% до 2040 року серед жінок віком до 70 років. Для досягнення цих цілей, на думку експертів, необхідне сприяння здоров'ю для раннього виявлення, своєчасна діагностика і комплексне лікування раку грудної залози [1].

РГЗ сьогодні визначається як група захворювань з варіабельною морфологією, молекулярними особливостями, поведінкою та відповіддю на терапію [2]. Зі збільшенням можливостей лікування в епоху прецизійної медицини традиційні клініко-патологічні прогностичні змінні і встановлені молекулярні прогностичні маркери здаються недостатніми для відображення такого ступеня гетерогенності. Необхідні додаткові молекулярні маркери для персоналізованого підходу до терапії, а для вдосконалення лікування раку необхідні прогностичні біомаркери.

Точна прогностична стратифікація дозволяє визначити одну групу пацієнтів з відмінним прогнозом, які не потребують токсичної системної терапії, і другу групу з несприятливим прогнозом, які потребують більш агресивних форм терапії. Для останньої групи використання прогностичних маркерів може визначити тип терапії, який можна запропонувати для покращення результату та мінімізації ризику несприятливих побічних ефектів. У звичайній діагностичній практиці HER2/neu та гормональні рецептори залишаються основними прогностичними факторами для вибору таргетної терапії при РГЗ і надають деяку прогностичну інформацію, але, незважаючи на це, існують ще не вирішені проблеми. Майже 60% пацієнтів з РГЗ на ранній стадії з негативними лімфатичними вузлами і понад 50% випадків зі всіх молекулярних підтипів класифікуються як люмінальні (позитивні на рецептор естрогену і HER2/neu негативні) пухлини [3, 4]. Незважаючи на відносно позитивний перебіг, поведінка цих пухлин сильно варіює, а деякі пов'язані з поганим прогнозом і потребують системної терапії у формі хіміотерапії або таргетної терапії, на додаток до гормональної терапії. Крім того, було задокументовано, що ендокринна терапія люмінального РГЗ зменшує частоту рецидивів протягом 10 років приблизно на 50% і зменшує 15-річну смертність на третину [5], але частина ER-позитивних пухлин не реагує на лікування [6], що вказує на те, що інші гени та шляхи залучені до визначення відповіді та поведінки цих пухлин. Виявлення таких прогностичних підгруп і рішення про те, яку терапію слід призначити, залишається у центрі уваги багатьох дослідницьких проєктів.

Також визнано, що HER2/neu-позитивний РГЗ, який становить 12-20%, і потрійно-негативний, який діагностується у 15-20% РГЗ, є агресивними пухлинами з поганим результатом, в тому числі несприятливі прогностичні параметри захворювання також виявлено у пацієнок молодшої вікової групи [7]. Відповідно до консенсусу St Gallen 2013 гістологічна оцінка надає значну прогностичну інформацію на додаток до підтипів раку грудної залози [8].

Зі зростанням витрат на охорону здоров'я та впровадженням нових цільових методів лікування, використання біомаркерів з'явилося як метод допомоги в діагностиці раку грудної залози, прогнозуванні терапевтичної відповіді та нагляду за захворюванням під час і після лікування.

За останні десятиліття багатьма науковими центрами проведено значну кількість досліджень з вивчення нових прогностичних чинників на основі молекулярної характеристики пухлин у хворих на рак грудної залози. Визначення геномних порушень, детермінуючих розвиток пухлини, ступінь її злоякісності, метастатичний потенціал і швидкість прогресії є пріоритетною областю молекулярно-генетичних досліджень у сучасній онкології. У зв'язку з цим на головне місце в прогнозуванні пухлин виходить молекулярна морфопатологія, яка враховує наявність чи відсутність онкогенів і супресорів пухлинного росту (молекулярно-біологічних маркерів) у клітинах. Відмінності в експресії певних маркерів можуть пояснити, чому порівнювані за поширеністю і гістологічною структурою пухлини відрізняються за агресивністю перебігу захворювання [9].

Визначення молекулярно-біологічних маркерів у тканині пухлини може надати додаткову інформацію про біологічну поведінку пухлини: швидкість її росту, здатність до інвазії і метастазування, стійкість до хіміопрепаратів.

Одним з таких маркерів є епітеліальний кадгерин (Е-кадгерин) – важливий член сімейства кадгеринів, відіграє важливу роль у процесі клітинної адгезії, потужний супресор інвазії та метастазування. Вибіркова втрата Е-кадгерину може спричинити дедиференціацію та інвазивність у карциномах людини, що призводить до того, що цей маркер класифікується як пухлинний супресор [10].

Е-кадгерин – одна з основних молекул клітинної адгезії в епітеліальних тканинах. Е-кадгерин кодується геном CDH1, який розташований на 16q22.1 хромосомі [11, 12]. Е-кадгерин локалізується на поверхні епітеліальних клітин, бере участь в утворенні адгезивних контактів, і це є характерною особливістю епітеліальних тканин. Е-кадгерин є поліпептидом, що складається з 728 залишків амінокислот. Метастазування є багатоступінчастим

процесом. Однією з найважливіших особливостей цього процесу є деформація адгезивних контактів неопластичних клітин, опосередкована порушенням експресії кадгеринів [13]. Іншою важливою особливістю цього процесу є реалізація епітеліально-мезенхімальної трансформації. Цей процес схожий з таким, що здійснюється під час ембріонального розвитку, але його важливою відмінністю є не контрольованість [14]. Епітеліально-мезенхімальна трансформація реалізується в епітеліальних пухлинах, забезпечуючи здатність до інвазії та метастазування [15].

Ген Е-кадгерину CDH1 вважається геном-супресором пухлини [16]. Його втрата чи аномальна експресія сприяє інвазії неопластичних клітин. При раку грудної залози зниження рівня Е-кадгерину виявляється майже в 50% випадків інвазивної протокової карциноми, в той час як при інвазивній часточковій карциномі – до 90%, насамперед у пухлинах з потрійним негативним фенотипом [14]. Деякі автори відзначають, що аберантна експресія Е-кадгерину пов'язана зі стадією пухлинного процесу та розвитком метастазів, а також часто поєднується з відсутністю експресії ER [17].

Морфологічні дослідження раку грудної залози, особливо з впровадженням у практику імуногістохімічних (ІГХ) методів, набули вирішального значення, так як їх результати дозволяють не тільки дати прогноз, але й визначити напрямок протипухлинної лікувальної терапії [18].

Таким чином, попередні дані вказують на важливу роль експресії білка Е-кадгерину. Встановлено, що знижена експресія Е-кадгерину при розвитку пухлини запускає каскад сигнальних механізмів, забезпечуючи пухлинним клітинам інвазивніший фенотип, збільшуючи їх здатність до міграції, виживання та сприяючи розвитку віддалених метастазів.

Важливим також є аналіз взаємозв'язку між експресією Е-кадгерину, наявністю метастазів в лімфатичні вузли, клініко-патологічними ознаками та молекулярним фенотипом інвазивного протокового раку грудної залози. Оцінка експресії Е-кадгерину є важливим прогностичним чинником перебігу раку грудної залози. І будь-які зміни, пов'язані з аномалією експресії чи дисфункцією молекул клітинної адгезії, можуть призвести до серйозних деструктивних наслідків.

Мета дослідження – визначення ролі Е-кадгерину у розвитку та прогресуванні молекулярних підтипів інвазивного протокового раку грудної залози шляхом оцінки експресії Е-кадгерину при різних клініко-патологічних прогностичних параметрах.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом теперішньої наукової роботи були дані аналізу

історій хвороби, амбулаторних карт диспансерного спостереження 193 пацієток з інвазивним протоковим раком грудної залози, які проходили спеціалізоване протипухлинне лікування на базі Комунального некомерційного підприємства Львівської Обласної Ради «Львівський онкологічний регіональний лікувально-діагностичний центр» у 2017 році. Клініко-патологічні характеристики включали розмір пухлини, статус лімфатичних вузлів, стадію, стан ER, PR, HER2/neu, відсутність доопераційного лікування, відсутність віддалених метастазів. З урахуванням того, що досліджуваний матеріал набрався за 2017 рік, згідно з національними та міжнародними рекомендаціями використовувалася класифікація TNM сьомого видання. У всіх випадках діагноз інвазивного протокового раку грудної залози був верифікований гістологічно. Гістологічний тип раку встановлювався відповідно до рекомендацій BOO3 [19]. Ступінь злоякісності визначався за модифікованою схемою P. Scarff, H. Bloom і W. Richardson [20].

Після вивчення клініко-патоморфологічної інформації і розподілу вибірки на молекулярні підтипи відповідно консенсусу St. Gallen 2015 [21] були сформовані групи спостережень: люмінальний А підтип (79 випадків); люмінальний В підтип (43 випадки); Her2/neu (39 випадків); потрійно-негативний (32 випадки).

Гістологічні дослідження операційного матеріалу проводилися із застосуванням універсального світлового мікроскопа Leica DM750 (Leica Microsystems GmbH). Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 pp.), ICH GCP (1996 p.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 p.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 p., № 944 від 14.12.2009 p., № 616 від 03.08.2012 p., ухвалені комісією з питань етики наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Загальногістологічна обробка зразків тканин інвазивного протокового раку грудної залози виконувалася за стандартними методиками. Імуногістохімічні дослідження (ІГХ) проводили в серійних парафінових зрізах тканини пухлини з використанням моноклональних антитіл. Інкубацію з первинними антитілами проводили згідно інструкцій фірм-виробників, візуалізацію ІГХ-реакції виконували з використанням системи детекції DAKO EnVision+System з діамінобензидином («DAKO», США). Зрізи дозобарвлювали гематоксиліном Майєра та заключали в канадський бальзам. ІГХ дослідження для Е-кадгерину (моноклональні мишачі антитіла, Clone HECD-1, Master diagnostica),

рецептора естрогену ER (моноклональні кролячі антитіла, Clone SP1, Dako), рецептора прогестерону PR (моноклональні мишачі антитіла PgR 636, Dako Flex), c-erbB2 (моноклональні кролячі антитіла до Her2/neu, Clone SP3, Thermo scientific) і білка Ki-67 (моноклональні мишачі антитіла, clone MIB-1, Dako) проводилося відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюми. Для зразків зі статусом Her2/neu 2+ за результатами імуногістохімічного дослідження була проведена флуоресцентна гібридизація in situ (FISH).

Оцінка імуногістохімічного забарвлення.

Позитивна експресія ER і PR була встановлена, коли $\geq 1\%$ неопластичних клітин показали позитивну ядерну експресію будь-якої інтенсивності [22]. Оцінку статусу ER та PR проводили згідно з рекомендаціями Американського товариства клінічної онкології/Коледжу американських патологів (ASCO/CAP) щодо тестування ER та PR ІГХ. Поріг між низькою і високою ядерною експресією Ki-67 був встановлений на рівні $\geq 20\%$ позитивних клітин згідно Консенсусу St. Gallen 2015. Для Her2/neu ІГХ розглядалося лише мембранне забарвлення, а більше 10% сильної мембранної позитивності було прийнято як позитивне (3+) Her2/neu відповідно до рекомендацій CAP.

Реакцію Е-кадгерину оцінювали за допомогою системи підрахунку, розробленої Qureshi та співавт. [23], в якій експресію Е-кадгерину оцінювали відповідно до відсотка позитивних клітин та інтенсивності забарвлення в п'яти полях зору зі збільшенням $\times 400$. Оцінювання: 0 – відсутність фарбування або позитивність мембрани в $<10\%$ пухлинних клітин; 1 – неповне і слабе мембранне фарбування $>10\%$ пухлинних клітин; 2 – повне мембранне фарбування зі слабкою або помірною інтенсивністю у $>10\%$ пухлинних клітин; 3 – сильне фарбування мембрани в $>10\%$ пухлинних клітин. Відповідно до цієї оцінки реакція вважалася негативною для балів 0 і 1, слабо позитивною для балів 2 і сильно позитивною для балів 3. Фарбування цитоплазми вважалося неспецифічним і не включалося в оцінку. Наявність фарбування Е-кадгерином в епітеліальних клітинах нормальних проток і ацинусів служило внутрішнім позитивним контролем. Усі препарати були оцінені двома патологоанатомами для забезпечення узгодженості.

Статистична обробка результатів дослідження. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою програми R Commander. Дані наведено у вигляді часток із 95% довірчими інтервалами (% [95%ДІ]), які обраховано за критерієм-ф кутового перетворення Фішера. Порівняння ступеня експресії Е-кадгерину при різних клініко-патологічних параметрах і різних молекулярних фенотипах оцінювали за допомогою

критерію Пірсона χ^2 . Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. У дослідження увійшли дані аналізу історій хвороби, амбулаторних карт диспансерного спостереження 193 пацієток з інвазивним протоковим раком грудної залози. Середній вік на час встановлення діагнозу становив 54,7 років (від 28 до 85 років). У пацієток переважали II і III стадії захворювання, що склало відповідно 89 (46,11%) і 64 (33,16%) спостережень. Першу стадію захворювання було діагностовано у 40 (20,73%) пацієток. Що стосується розмірів пухлини грудної залози, то розподіл виглядав наступним чином: стадію pT1 діагностовано у 61 (31,61%) хворої, стадію pT2 – у 96 (49,74%) пацієток, стадію pT3 – у 19 (9,84%) хворих і стадію pT4 – відповідно у 17 (8,81%) пацієток. У понад 50,0% хворих на час встановлення діагнозу діагностовано ураження лімфатичних вузлів pN1- pN3. Визначення ступеня злоякісності (Grade) і розподіл був наступним: G1 відзначено у 16 (8,29%) хворих, G2 – у 129 (66,84%) хворих, G3 – у 47 (24,35%) і G4 – в 1 (0,52%) хворого. Розподіл за молекулярно-генетичними підтипами включав люмінальний А – у 79 (40,93%) хворих, люмінальний В – у 43 (22,28%) хворих, нелюмінальний HER2-neu позитивний – в 39 (20,21%) хворих і потрійний негативний рак грудної залози (TNBC) встановлений у 32 (16,58%) пацієток.

Проведене ІГХ дослідження та аналіз експресії Е-кадгерину у 86 спостереженнях із 193 випадків інвазивного протокового раку грудної залози. За допомогою імуногістохімічного аналізу Е-кадгерину було виявлено імунореактивність різного ступеня вираження залежно від віку пацієток, стадії захворювання, розміру пухлини, ступеня злоякісності G, ураження пухлинним процесом лімфатичних вузлів, а також у різних молекулярних підтипах карцином грудної залози.

Е-кадгерин експресувався у вигляді мембранного фарбування. Експресія Е-кадгерину оцінювалася як 0 (відсутність, **рис. 1**), 1 (неповне і слабе мембранне фарбування, **рис. 2**), 2 (повне мембранне фарбування зі слабкою або помірною інтенсивністю, **рис. 3**) та 3 (сильне фарбування мембрани в $>10\%$ пухлинних клітин, **рис. 4**) на основі інтенсивності фарбування мембрани епітеліальних клітин.

Порівняння за експресією Е-кадгерину та метастазами в лімфатичні вузли показало, що позитивна експресія Е-кадгерину була різного ступеня вираження і включала як низьку, так і високу експресію. Високий рівень експресії встановлено у 6 випадках (85,71 [52,74-99,97]%) із 7 неметастатичних пухлин, у 5 (55,56 [24,21-84,62]%) випадках з 9 з мікрометастазами у лімфатичні вузли і в

31 (44,29 [32,91-55,97]%) випадку з 70 з метастазами у лімфатичні вузли pN1-3. Натомість негативна або низька експресія Е-кадгерину виявлена в 1 (14,29 [0,03-47,26]%, $p=0,008$) спостереженні раку грудної залози без лімфогенного метастазування і в 4 (44,44 [15,38-75,79]%, $p=0,64$) випадках

з наявними мікрометастазами. Низька і відсутня експресія Е-кадгерину переважала у 39 (55,71 [44,03-67,09]%, $p=0,18$) спостереженнях з пухлинним ураженням лімфатичних вузлів. Встановлено, що експресія Е-кадгерину в тканині протокового раку грудної залози значно нижча при

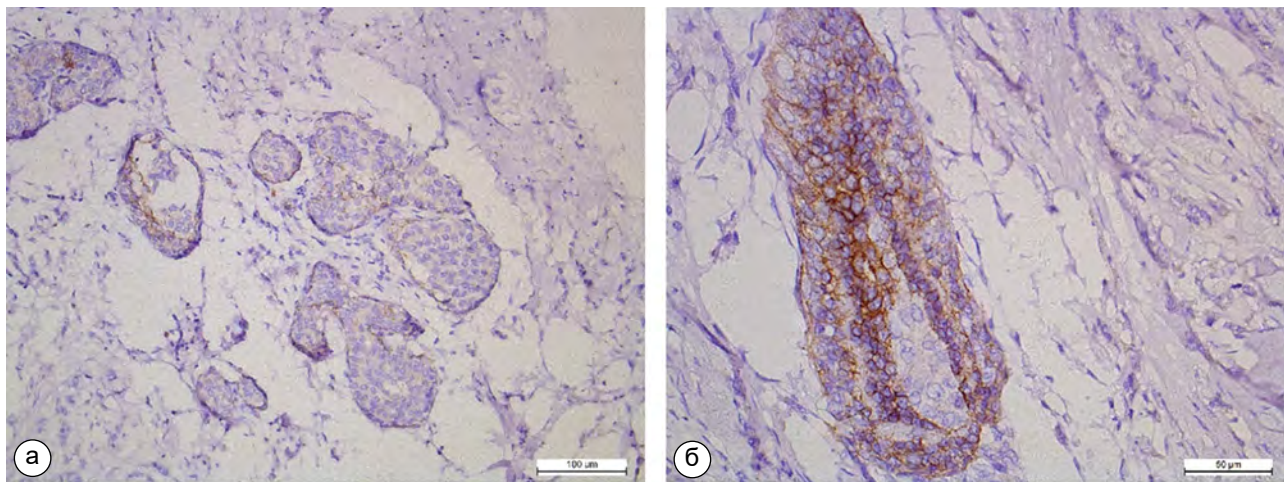


Рис. 1 – Інвазивна протокова карцинома грудної залози: а) без імунореактивності з антитілами до Е-кадгерину ($\times 200$); б) позитивність мембрани в $<10\%$ пухлинних клітин (0 балів) ($\times 400$)

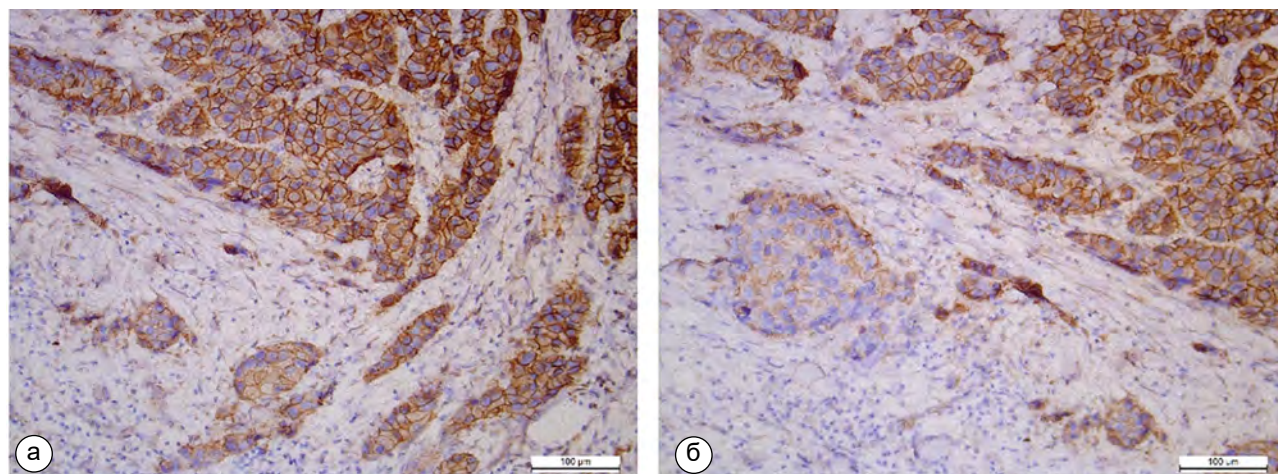


Рис. 2 – Інвазивна протокова карцинома грудної залози, експресія Е-кадгерину: неповне і слабке мембранне фарбування $>10\%$ пухлинних клітин (1 бал) ($\times 200$)

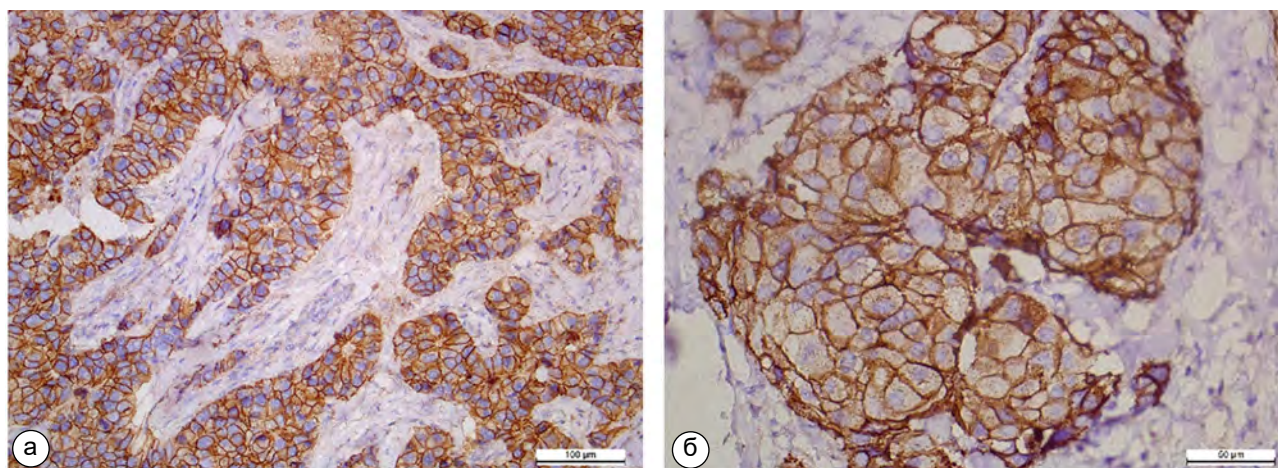


Рис. 3 – Інвазивна протокова карцинома грудної залози, експресія Е-кадгерину: повне мембранне фарбування зі слабкою або помірною інтенсивністю у $>10\%$ пухлинних клітин (2 бали), а) - $\times 200$; б) - $\times 400$

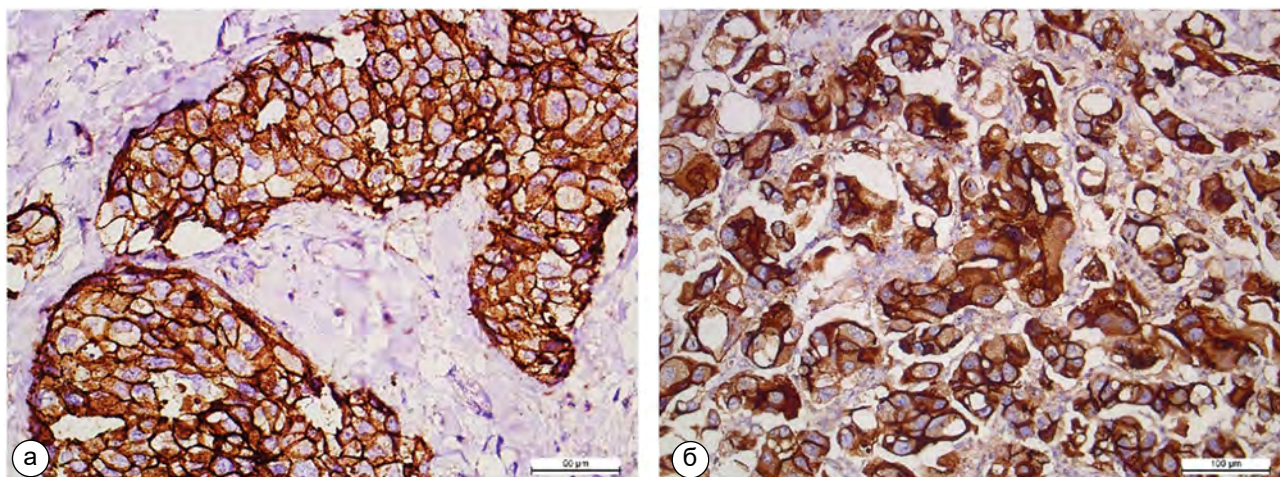


Рис. 4 – Інвазивна протокова карцинома грудної залози, експресія Е-кадгерину: сильне фарбування мембрани в >10% пухлинних клітин (3 бали), а) – $\times 400$; б) – $\times 200$

наявності метастазів у лімфатичні вузли, ніж без метастатичного ураження лімфатичних вузлів ($\chi^2 = 4,55$, $p=0,031$; **табл. 1**), тобто низька експресія Е-кадгерину асоціювалася з метастазами в лімфатичні вузли. Окрім того, дана детальна характеристика експресії Е-кадгерину пухлинною тканиною в залежності від кількості уражених лімфатичних вузлів (від 1-3 л/в до 10 і більше л/в) (**табл. 2**). Досліджено експресію Е-кадгерину в порівнянні з клініко-патологічними ознаками (**табл. 2**) і молекулярними підтипами (**табл. 3**) інвазивної протокової карциноми грудної залози.

Експресія Е-кадгерину виявляла незначущі відмінності щодо віку пацієнток, тобто, чи були пацієнти в менопаузі чи пременопаузі (**табл. 2**). Так, у віці до 50 років негативна і низька експресія Е-кадгерину виявлялася у 21 випадку (53,85 [38,27-69,05] %), висока експресія (3 бали) – у 18 спостереженнях (46,15 [30,95-61,73]%) ($p>0,05$). Пацієнти у віці >50 років характеризувалися як високою позитивною експресією Е-кадгерину, так і низькою і негативною, однак не було суттєвих відмінностей в залежності від віку пацієнток.

Експресія Е-кадгерину виявляла значні відмінності щодо стадії pT1 і pT3 (класифікація TNM), тобто при розмірі пухлини ≤ 2 см і при розмірі ≥ 5 см. Так, у 28 хворих (32,56 [23,12-42,78] %) була встановлена стадія pT1, з них тільки у 9 спостереженнях (32,14 [16,45-50,26] %) визначалася негативна чи низька експресія, а відсоток пацієнтів з високою експресією Е-кадгерину був більшим, ніж у 2 рази і склав 67,86 [49,74-83,55] % (19 спостережень), $p=0,008$. Що стосується стадії pT3, то потрібно наголосити, що негативна і низька експресія виявлена у 77,78 [46,79-97,33] % випадків, в той час, як висока експресія Е-кадгерину виявлялася у 3,5 рази менше. Тобто, хворі зі стадією pT1 були значно асоційовані з позитивною експресією Е-кадгерину ($p=0,008$), а пацієнтки зі стадією pT3 були суттєво асоційовані з низькою і негативною експресією Е-кадгерину ($p=0,018$). Аналогічна картина спостерігалася при дослідженні експресії Е-кадгерину у пацієнток з 1 клінічною стадією (розмір пухлини в найбільшому діаметрі до 2 см N0, pN1mic) і 3 стадією (розмір пухлини в найбільшому діаметрі ≥ 5 см, N2-3, G2-3) захворювання (відповідно, $p=0,016$ і $p=0,001$).

Таблиця 1 – Порівняння за експресією Е кадгерину та метастазами в лімфатичні вузли

Кількість пацієнтів (%)							
Метастази в лімфатичні вузли	Загальна кількість (n=86)		Негативна або низька експресія Е-кадгерину (0–2 бали)		Висока експресія Е-кадгерину (3 бали)		p (χ2)
	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	
pN0 (відсутні)	7	8,14 [3,33-14,81]	1	14,29 [0,03-47,26]	6	85,71 [52,74-99,97]	0,008
pN1mic (мікро)	9	10,47 [4,92-17,77]	4	44,44 [15,38-75,79]	5	55,56 [24,21-84,62]	0,637
pN1-3	70	81,40 [72,53-88,86]	39	55,71 [44,03-67,09]	31	44,29 [32,91-55,97]	0,176
Загальний p (χ2)							0,031

Примітка: Метастази в лімфатичних вузлах відносяться до пахових лімфатичних вузлів і сторожових лімфатичних вузлів і включають як мікрометастази лімфатичних вузлів, так і наявні пухлинні метастатичні ураження.

Таблиця 2 – Порівняння за експресією Е-кадгерину клінічних та патологічних ознак інвазивної протокової карциноми грудної залози

Клініко-патологічні ознаки	Кількість пацієнтів (%)						
	Загальна кількість		Негативна або низька експресія Е-кадгерину (0–2 бали)		Висока експресія Е-кадгерину (3 бали)		p (χ2)
	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	
Вік:	86	100,00	46	53,49 [42,95-63,87]	40	46,51 [36,13-57,05]	0,360
<50	39	45,35 [35,01-55,90]	21	53,85 [38,27-69,05]	18	46,15 [30,95-61,73]	0,497
>50	47	54,65 [44,10-64,99]	25	53,19 [38,99-67,13]	22	46,81 [32,87-61,01]	0,536
Стадія pT:	86	100,00	41	47,67 [37,25-58,20]	45	52,33 [41,80-62,75]	0,542
pT1 (≤2 см)	28	32,56 [23,12-42,78]	9	32,14 [16,45-50,26]	19	67,86 [49,74-83,55]	0,008
pT2 (>2 см, <5см)	42	48,84 [38,38-59,35]	20	47,62 [32,85-62,60]	22	52,38 [37,40-67,15]	0,663
pT3 (≥5 см)	9	10,47 [4,92-17,77]	7	77,78 [46,79-97,33]	2	22,22 [2,67-53,21]	0,018
pT4 (≥5 см, клінічні особливості)	7	8,14 [3,33-14,81]	5	71,43 [35,32-96,30]	2	28,57 [3,70-64,68]	0,109
Лімфатичні вузли:	86	100,00	44	51,16 [40,65-61,62]	42	48,84 [38,38-59,35]	0,760
pN0	7	8,14 [3,33-14,81]	1	14,29 [0,03-47,26]	6	85,71 [52,74-99,97]	0,008
pN1mic (мікро)	9	10,47 [4,92-17,77]	4	44,44 [15,38-75,79]	5	55,56 [24,21-84,62]	0,637
pN1a (1-3 л/в)	41	47,67 [37,25-58,20]	22	53,66 [38,46-68,52]	19	46,34 [31,48-61,54]	0,508
pN2a (4-9 л/в)	18	20,93 [13,04-30,11]	10	55,56 [32,83-77,12]	8	44,44 [22,88-67,17]	0,505
pN3a (≥10 л/в)	11	12,79 [6,61-20,63]	7	63,64 [34,52-88,13]	4	36,36 [11,87-65,48]	0,201
Стадія клінічна:	86	100,00	45	52,33 [41,80-62,75]	41	47,67 [37,25-58,20]	0,542
1 (до 2 см N0, pN1mic)	17	19,77 [12,09-28,79]	5	29,41 [10,84-52,55]	12	70,59 [47,45-89,16]	0,016
2 (>2 см, <5см, pN1a)	40	46,51 [36,13-57,05]	19	47,50 [32,39-62,85]	21	52,50 [37,15-67,61]	0,655
3 (≥5 см, N2-3, G2-3)	29	33,72 [24,17-44,00]	21	72,41 [55,04-86,86]	8	27,59 [13,14-44,96]	0,001
Ступінь злоскісності (G):	86	100,00	56	65,12 [54,78-74,78]	40	46,51 [36,13-57,05]	0,014
G1	7	8,14 [3,33-14,81]	2	28,57 [3,70-64,68]	5	71,43 [35,32-96,30]	0,109
G2	57	66,28 [56,00-75,83]	37	64,91 [52,16-76,66]	20	35,09 [23,34-47,84]	0,001
G3	21	24,42 [15,98-34,00]	16	76,19 [56,16-91,50]	5	23,81 [8,50-43,84]	0,001
G4	1	1,16 [0-4,50]	1	100,00	0	0,00	0,157

Примітка: Частка «Загальна кількість» обрахована від усіх досліджуваних пацієнтів (n=86).

Не виявлено суттєвих відмінностей щодо рівнів експресії Е-кадгерину у стадії пухлини pT2 і 2 клінічній стадії (розмір пухлини в найбільшому діаметрі >2 см, <5см, pN1a) (p>0,05).

Значущі результати порівняння спостерігалися між експресією Е-кадгерину і ступенем диференціації G (p=0,014). У пацієнтів з помірно диференційованими (G2) і низько диференційованими (G3) пухлинами негативна і низька експресія Е-кадгерину переважала в декілька разів за випадки з високим рівнем експресії. Так, низькі показники клітинної адгезії визначалися у 37 пацієнтів з G2 пухлинами, що склало 64,91 [52,16-76,66] %. Висока позитивна експресія Е-кадгерину виявлена у 20 пацієнтів (35,09 [23,34-47,84] %), тобто G2 пухлини достовірно характеризувалися переважанням негативної і низької експресії Е-кадгерину (p=0,001). G3 пухлини аналогічно проявлялися негативною і низькою експресією у 16 випадках (76,19 [56,16-91,50] %), що було у 3,2 разу більше за G3 пухлини з високим ступенем експресії Е-кадгерину (5 спостережень, або 23,81 [8,50-43,84] %), (p=0,001).

Однак не було суттєвих відмінностей у G1 карцином (p=0,109). Із 7 (8,14 [3,33-14,81] %) випадків інвазивної протокової карциноми G1 ступеня диференціації Е-кадгерин був відсутнім чи слабо позитивним у 2 пацієнтів (28,57 [3,70-64,68] %), проте у 5 пацієнтів (71,43 [35,32-96,30] %) виявлена висока його експресія.

Детальне дослідження експресії Е-кадгерину пухлинною тканиною в залежності від кількості уражених лімфатичних вузлів (від 1-3 л/в до 10 і більше л/в) не виявило достовірних відмінностей між ступенем експресії і кількістю уражених пухлинною лімфовузлів: pN1a (1-3 л/в), pN2a (4-9 л/в) і pN3a (≥10 л/в), відповідно, (p>0,05), хоча спостереження з позитивним статусом лімфатичних вузлів мали тенденцію до частіше негативної і низької експресії Е-кадгерину (0-2 бали).

Встановлено, що низька експресія Е-кадгерину або її відсутність виявлялася в пухлинах pT3 (≥5 см), у пацієнтів з 3 клінічною стадією (≥5 см, N2-3, G2-3), з G2 і G3 ступенем злоскісності. Натомість високий рівень експресії Е-кадгерину мав

Таблиця 3 – Порівняння за експресією Е-кадгерину молекулярних підтипів інвазивної протокової карциноми грудної залози

Молекулярний під-тип	Кількість пацієнтів (%)						p (χ2)
	Загальна кількість (100%)		негативна або низька експресія Е-кадгерину (0–2 бали)		Висока експресія Е-кадгерину (3 бали)		
	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	
Молекулярні підтипи:	86	100	46	53,49 [42,95-63,87]	40	46,51 [36,13-57,05]	0,360
Вік:							
<50	39	45,35 [35,01-55,90]	21	53,85 [38,27-69,05]	18	46,15 [30,95-61,73]	0,497
>50	47	54,65 [44,1-64,99]	25	53,19 [38,99-67,13]	22	46,81 [32,87-61,01]	0,536
Люмінальний А (ER+, PR+, Her-2/neu-)	25	29,07 [20,01-39,06]	9	36,00 [18,72-55,40]	16	64,00 [44,60-81,28]	0,048
Вік:							
<50	8	32,00 [15,54-51,19]	3	37,50 [9,46-71,31]	5	62,50 [28,69-90,54]	0,317
>50	17	68,00 [48,81-84,46]	6	35,29 [15,05-58,80]	11	64,71 [41,20-84,95]	0,086
Люмінальний В ER+, PR+, Her-2/neu+ або ER+, PR+, Her-2/neu-, Ki-67≥20%	22	25,58 [16,97-35,28]	12	54,55 [33,95-74,36]	10	45,45 [25,64-66,05]	0,546
Вік:							
<50	13	59,09 [38,36-78,26]	7	53,85 [27,51-79,08]	6	46,15 [20,92-72,49]	0,695
>50	9	40,91 [21,74-61,64]	5	55,56 [24,21-84,62]	4	44,44 [15,38-75,79]	0,637
Her2/neu+ ER-, PR-, Her-2/neu+	19	22,09 [14,01-31,42]	11	57,89 [35,65-78,57]	8	42,11 [21,43-64,35]	0,330
Вік:							
<50	11	57,89 [35,65-78,57]	6	54,55 [26,03-81,52]	5	45,45 [18,48-73,97]	0,670
>50	8	42,11 [21,43-64,35]	5	62,50 [28,69-90,54]	3	37,50 [9,46-71,31]	0,317
Потрійно-негативний ER-, PR-, Her-2/neu-	20	23,26 [14,99-32,71]	14	70,00 [48,66-87,56]	6	30,00 [12,44-51,34]	0,011
Вік:							
<50	7	35,00 [16,18-56,66]	5	71,43 [35,32-96,30]	2	28,57 [3,70-64,68]	0,109
>50	13	65,00 [43,34-83,82]	9	69,23 [42,59-90,33]	4	30,77 [9,67-57,41]	0,050

місце у пацієнок зі стадією pT1 (≤2 см), 1 клінічною стадією пухлинного процесу (до 2 см N0, pN1mic), відсутністю метастазів у лімфатичних вузлах (pN0). Однак не було суттєвих відмінностей щодо віку пацієнок (p>0,05).

Вивчено асоціацію експресії Е-кадгерину з рецепторним статусом пухлин і молекулярно-генетичним фенотипом карцином (**табл. 3**).

Висока експресія Е-кадгерину була поширеною в ER-позитивних пухлинах, зокрема у 16 (64,00 [44,60-81,28] %, p=0,048) хворих з 25 з люмінальним А фенотипом карциноми. Потрібно наголосити, що висока експресія Е-кадгерину визначалася у пацієнок як пременопаузального, так і постменопаузального віку, проте пацієнтки у віці >50 років були значно асоційовані з позитивною експресією Е-кадгерину.

У пацієнок з люмінальним В раком грудної залози дослідження Е-кадгерину продемонструвало низьку і негативну експресію у 12 спостереженнях (54,55 [33,95-74,36] %) і в 10 випадках 45,45 [25,64-66,05] %) – високий рівень. У вікових групах до 50 років і більше 50 незначно переважала низька і

негативна експресія (p>0,05). Аналогічна картина прослідковувалася у групі пацієнок з Her2/neu-позитивним фенотипом. Так, в 11 (57,89 [35,65-78,57] %) з 19 хворих виявлено негативну і низьку експресію, у 8 (42,11 [21,43-64,35] %) спостерігалася позитивна висока експресія. Також переважала низька і негативна експресія незалежно від того, чи були пацієнти в менопаузі, чи пременопаузі, і не було суттєвих відмінностей з підгрупою, в якій спостерігалася позитивна висока експресія (p>0,05).

Що стосується потрійно-негативного раку грудної залози, необхідно зазначити, що було виявлено достовірне переважання пацієнок з низькою і негативною експресією Е-кадгерину (p=0,011). У 14 (70,00 [48,66-87,56] %) спостереженнях з 20 визначалися низькі показники клітинної адгезії, хоча більшість хворих була у віці понад 50 років (p=0,050). У 30% пацієнтів спостерігалася висока експресія Е-кадгерину, переважно у віковій групі також понад 50 років (p=0,050).

Дискусія. Захворюваність на рак грудної залози продовжує зростати, і в даний час це найпоширеніша форма злоякісної пухлини серед

жіночого населення у всьому світі [24, 25]. Поширення метастазів раку грудної залози впливає на прогноз захворювання і є основною причиною смертності [26]. Рецидив раку грудної залози та метастази є серйозною клінічною проблемою.

Зміни адгезії клітин є основним механізмом інвазії та метастазування злоякісної пухлини. Зміни в молекулах адгезії можуть зменшити адгезію пухлинних клітин, сприяючи інфільтрації пухлини та метастазуванню. Таким чином, зниження адгезії клітин є важливим чинником, що призводить до метастазування пухлини [27]. Епітеліальний кадгерин (Е-кадгерин) є членом сімейства кадгеринів і відіграє важливу роль у процесі клітинної адгезії. Вибіркова втрата Е-кадгерину може спричинити дедиференціацію та інвазивність у карциномах людини, що призводить до того, що цей маркер класифікується як пухлинний супресор. Відповідно до цієї ролі в прогресуванні раку грудної залози, було виявлено, що часткова або повна втрата експресії Е-кадгерину корелює з несприятливим прогнозом у пацієнтів [28, 29, 30].

Для визначення характеру експресії білка Е-кадгерину та його можливого клінічного значення було досліджено 86 випадків інвазивної протокової карциноми грудної залози. Експресію Е-кадгерину виявляли за допомогою імуногістохімії і проводили порівняння клінічних та патологічних ознак і молекулярних підтипів інвазивної протокової карциноми грудної залози за рівнями експресії Е-кадгерину. Дослідження показали, що Е-кадгерин тісно пов'язаний з інфільтрацією та метастазуванням протокової карциноми грудної залози і може бути використаний як маркер для прогнозування метастазів у лімфатичні вузли. Виявлено високу експресію Е-кадгерину в інвазивних пухлинних клітинах без метастазів. Показник негативної експресії був значно вищим у пацієнтів з раком грудної залози з локальними метастазами в регіонарні лімфатичні вузли, ніж у пацієнтів без метастазів у лімфатичні вузли, і відмінності були статистично значущими ($p < 0,05$).

Дослідження інших авторів показали, що коли в ракових клітинах відбувається епітеліально-мезенхімальна трансформація, експресія Е-кадгерину зменшується або демонструє функціональну втрату, що спричиняє зниження адгезії клітин, втрату полярності та інфільтрацію навколишньої тканини [31]. Е-кадгерин став одним із центрів дослідження серед всіх кадгеринів, і було показано, що Е-кадгерин бере участь у ранньому виникненні, інфільтрації та метастазуванні різних пухлин [32, 33].

Втрата експресії Е-кадгерину має несприятливе прогностичне значення. Його відсутність часто асоціюється з метастатичним статусом лімфатич-

них вузлів, рецидивом пухлини, низьким ступенем диференціювання та запущеною стадією пухлини [34]. Результати даного дослідження показали значні відмінності експресії Е-кадгерину при стадіях pT1 і pT3 (класифікація TNM), тобто при розмірі пухлини ≤ 2 см і при розмірі ≥ 5 см. Хворі зі стадією pT1 були значно асоційовані з позитивною експресією Е-кадгерину ($p = 0,008$), а пацієнтки зі стадією pT3 були суттєво асоційовані з низькою і негативною експресією Е-кадгерину ($p = 0,018$). Аналогічна картина спостерігалася при дослідженні експресії Е-кадгерину у пацієнток з 1 клінічною стадією (розмір пухлини в найбільшому діаметрі до 2 см N0, pN1mic) і 3 стадією (розмір пухлини в найбільшому діаметрі ≥ 5 см, N2-3, G2-3) захворювання (відповідно, $p = 0,016$ і $p = 0,001$).

Значущі результати порівняння спостерігалися між експресією Е-кадгерину і ступенем диференціації G ($p = 0,014$). У пацієнтів з помірно диференційованими (G2) і низько диференційованими (G3) пухлинами негативна і низька експресія Е-кадгерину переважала в декілька разів за випадки з високою експресією. Позитивна імунна реакція зменшувалася з дедиференціюванням пухлини. У низько диференційованих пухлинах експресія Е-кадгерину була виражена слабо з позитивністю мембрани в $< 10\%$ пухлинних клітин (0 балів) або зовсім не була (рис. 1). Не всі клітини були забарвлені, а позитивні клітини демонстрували аномальні моделі фарбування, лише з фокальною та точковою позитивністю мембрани (1 бал) (рис. 2). У пухлинах помірного ступеня диференціювання експресія Е-кадгерину була неоднорідною: повне мембранне фарбування зі слабкою або помірною інтенсивністю у $> 10\%$ пухлинних клітин (2 бали). Натомість, високий рівень експресії Е-кадгерину переважав у пацієнток з високо диференційованими карциномами, при якому мало місце сильне фарбування мембрани в $> 10\%$ пухлинних клітин (3 бали).

Результати даного дослідження продемонстрували, що експресія Е-кадгерину була пов'язана з молекулярним типом інвазивної протокової карциноми грудної залози. В люмінальному А фенотипі експресія Е-кадгерину була високою в 16 випадках із 25, причому переважала у віці понад 50 років, що вказує на те, що ER-позитивна експресія може брати участь у регуляції експресії Е-кадгерину. В літературі також показано, що низька пухлинна активність клітин інвазивного протокового раку грудної залози люмінального підтипу супроводжується підвищенням адгезивних властивостей цих клітин за рахунок високого рівня експресії Е-кадгерину [35].

На сьогоднішній день, за даними авторів, Е-кадгерин вважається незалежним маркером потрібно-негативного раку грудної залози, молекулярного підтипу, що характеризується

несприятливим прогнозом і короткою тривалістю життя хворих [36]. У даному дослідженні виявлено достовірне переважання пацієнток з низькою і негативною експресією Е-кадгерину ($p=0,011$). У 14 (70,00 [48,66-87,56] %) спостереженнях з 20 визначалися низькі показники клітинної адгезії, хоча більшість хворих була у віці понад 50 років ($p=0,050$). В потрійно-негативному фенотипі Е-кадгерин демонстрував низьку експресію, що було тісно пов'язано з інвазією і метастазуванням.

Експресія Е-кадгерину в HER-2-позитивному і люмінальному В фенотипах була в більшій частині спостережень низькою і навіть негативною у пацієнток як пременопаузального віку, так і в менопаузі, натомість, висока експресія визначалася в 45,45 [25,64-66,05] % спостережень люмінального В фенотипу і в 42,11 [21,43-64,35] %, відповідно, Her2/неу-позитивного, однак не було суттєвих відмінностей між високою і низькою експресією ($p>0,05$). Різна онкогенність клітин HER-2-позитивного і люмінального В фенотипів пов'язана зі зміною адгезивних контактів, що обумовлено порушеннями експресії Е-кадгерину.

Висновки. Результати проведеного дослідження і дані літератури дозволили проаналізувати імунореактивність Е-кадгерину залежно від віку пацієнток, стадії захворювання, розміру пухлини, ступеня злоякісності G, ураження пухлинним процесом лімфатичних вузлів, а також у різних молекулярних підтипах карцином грудної залози.

Встановлено, що низька експресія Е-кадгерину чи її відсутність асоціювалася з пухлинами pT3 (≥ 5 см), 3 клінічною стадією (≥ 5 см, N2-3, G2-3), з G2 і G3 ступенями злоякісності, метастатичним статусом лімфатичних вузлів. Втрата експресії

Е-кадгерину має несприятливе прогностичне значення.

Експресія Е-кадгерину була пов'язана з молекулярним типом інвазивної протокової карциноми грудної залози. Висока експресія Е-кадгерину була поширеною в ER-позитивних пухлинах люмінального А фенотипу і визначалася у пацієнток як пременопаузального, так і постменопаузального віку, що вказує на те, що ER-позитивна експресія може брати участь у регуляції експресії Е-кадгерину. Низька пухлинна активність клітин інвазивного протокового раку грудної залози люмінального підтипу супроводжується підвищенням адгезивних властивостей цих клітин за рахунок високого рівня експресії Е-кадгерину.

Е-кадгерин вважається незалежним маркером потрійно-негативного раку грудної залози і характеризується несприятливим прогнозом і короткою тривалістю життя хворих. Потрійно-негативний рак асоціювався з достовірним переважанням пацієнток з низькою і негативною експресією Е-кадгерину ($p=0,011$).

Таким чином, Е-кадгерин є потужним пухлинним супресором раку грудної залози. Відповідно до цієї ролі в прогресуванні раку грудної залози, було виявлено, що часткова або повна втрата експресії Е-кадгерину корелює з несприятливим прогнозом у пацієнтів.

Перспективи подальших досліджень. Потрібні подальші дослідження, щоб визначити, чи мають місце відмінності експресії Е-кадгерину в первинних клітинах раку грудної залози та їх метастазах. Оцінка онкомаркера Е-кадгерину, який бере участь в адгезії клітин, може бути корисним методом для оцінки ризику метастазування у пацієнтів з раком грудної залози.

References

1. WHO. Breast cancer. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
2. Volos LI, Dudash AP. *Invasive ductal breast carcinoma: morphological features of molecular subtypes*. Medical University of Lublin, 2021. The modern stage of the development of medical education in Ukraine and EU countries: Collective monograph. Riga, Latvia: "Baltija Publishing"; 2021. p. 50-66. doi: 10.30525/978-9934-26-090-2-3
3. Fernández-Tortolero Á, Reigosa-Yániz A. Subtypes of luminal breast carcinoma according to the Saint Gallen Consensus in a group of Venezuelan patients. *Biomedica*. 2021 Sep 22;41(3):531-40. PMID: 34559498 PMCID: PMC8519592. doi: 10.7705/biomedica.5496
4. Ignatiadis M, Sotiriou C. Luminal breast cancer: from biology to treatment. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013 Sep;10(9):494-506. PMID: 23881035. doi: 10.1038/nrclinonc.2013.124
5. Davies C, Godwin J, Gray R, Clarke M, Cutter D, Darby S, et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 2011;378(9793):771-84. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60993-8
6. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005;365(9472):1687-1717. PMID: 15894097. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66544-0
7. Erić I, Petek Erić A, Kristek J, Koprivčić I, Babić M. Breast cancer in young women: pathologic and immunohistochemical features. *Acta Clin Croat*. 2018 Sep;57(3):497-502. doi: 10.20471/acc.2018.57.03.13

8. Ehinger A, Malmström P, Bendahl PO, Elston CW, Falck AK, Forsare C, et al.; South and South-East Swedish Breast Cancer Groups. Histological grade provides significant prognostic information in addition to breast cancer subtypes defined according to St Gallen 2013. *Acta Oncol.* 2017 Jan;56(1):68-74. PMID: 27762648. doi: 10.1080/0284186X.2016.1237778
9. Volos LI, Dudash AP. Osoblyvosti ekspresiyi SOKh-2 v riznykh molekulyarnykh pidtypakh invazyvnoho protokovoho raku hruudnoi zalozy [Features of the COX-2 Expression in Different Molecular Subtypes of Invasive Ductal Breast Cancer]. *Ukr ž med biol sportu.* 2022;1(35):68-78. doi: 10.26693/jmbs07.01.068
10. Frixen UH, Behrens J, Sachs M, Eberle G, Voss B, Warda A, et al. E-Cadherin mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. *J Cell Biol.* 1991;113:173-85. PMID: 2007622. PMCID: PMC2288921. doi: 10.1083/jcb.113.1.173
11. Paredes J, Figueiredo J, Albergaria A, Oliveira P, Carvalho J, Ribeiro AS, et al. Epithelial E- and P-cadherins: role and clinical significance in cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1826:297-11. PMID: 22613680. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.05.002
12. Sethi S, Sarkar FH, Ahmed Q, Bandyopadhyay S, Nahleh ZA, Semaan A, et al. Molecular markers of epithelial-to-mesenchymal transition are associated with tumor aggressiveness in breast carcinoma. *Transl Oncol.* 2011;4:212-16. PMID: 21804917. PMCID: PMC3140009. doi: 10.1593/tlo.10244
13. Saadatmand EM, Kruijff EM, Sajet A, Dekker-Ensink NG, van Nes JG, Putter H, et al. Expression of cell adhesion molecules and prognosis in breast cancer. *Br J Surg.* 2013;100:252-60. PMID: 23175431. doi: 10.1002/bjs.8980
14. Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers of epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest.* 2009;119(6):1429-37. PMID: 19487819. PMCID: PMC2689132. doi: 10.1172/JCI36183
15. Wells A, Chao YL, Grahovac J, Wu Q, Lauffenburger DA. Epithelial and mesenchymal phenotypic switchings modulate cell motility in metastasis. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2011;16:815-37. PMID: 21196205. PMCID: PMC4003907. doi: 10.2741/3722
16. Pecina-Slaus N. Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. *Cancer Cell Int.* 2003;3(1):17. PMID: 14613514. PMCID: PMC270068. doi: 10.1186/1475-2867-3-17
17. Kowalski PJ, Rubin MA, Kleer CG. E-cadherin expression in primary carcinomas of the breast and its distant metastases. *Breast Cancer Res.* 2003; 5:217-22. PMID: 14580257. PMCID: PMC314411. doi: 10.1186/bcr651
18. Chand P, Garg A, Singla V, Rani N. Evaluation of immunohistochemical profile of breast cancer for prognostics and therapeutic use. *Niger J Surg.* 2018 Jul-Dec;24(2):100-106. PMID: 30283220. PMCID: PMC6158994. doi: 10.4103/njs.NJS_2_18
19. Tan PH, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox SB, Lakhani S, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology.* 2020 Aug;77(2):181-185. PMID: 32056259. doi: 10.1111/his.14091
20. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19:403-10. PMID: 1757079. doi: 10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x
21. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, et al; Panel Members. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol.* 2015 Aug;26(8):1533-46. PMID: 25939896. PMCID: PMC4511219. doi: 10.1093/annonc/mdv221
22. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, et al. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Update. *Arch Pathol Lab Med.* 2020 May;144(5):545-63. PMID: 31928354. doi: 10.5858/arpa.2019-0904-SA
23. Qureshi HS, Linden MD, Divine G and Raju UB: E-Cadherin status in breast cancer correlates with histologic type but does not correlate with established prognostic parameters. *Am J Clin Pathol.* 2006; 125(3): 377-85. PMID: 16613340. doi: 10.1309/WMX7DRWTFVQP2LQT
24. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(4):271-89. PMID: 27253694. doi: 10.3322/caac.21349
25. Volos LI, Dudash AP. Tumor-infiltrating lymphocytes in nonluminal invasive ductal breast carcinoma. *Azerbaijan Med J.* 2022;1:131-37. doi: 10.34921/amj.2022.1.021
26. Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, et al. Cancer statistics in China 2015. *CA Cancer J Clin.* 2016;66:115-32. PMID: 26808342. doi: 10.3322/caac.21338
27. Li DM, Feng YM. Signaling mechanism of cell adhesion molecules in breast cancer metastasis: Potential therapeutic targets. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;128:7-21. PMID: 21499686. doi: 10.1007/s10549-011-1499-x
28. Mareel M, Van Roy F. The human E-cadherin/catenin complex: a potent invasion and tumor suppressor. *Verh K Acad Geneesk Belg.* 1998;60:567-98.
29. Nollet F, Berx G, van Roy F. The role of the E-cadherin/ catenin adhesion complex in the development and progression of cancer. *Mol Cell Biol Res Commun.* 1999;2:77-85. PMID: 10542129. doi: 10.1006/mcbr.1999.0155

30. Yoshida R, Kimura N, Harada Y, Ohuchi N. The loss of E-cadherin, alpha- and beta-catenin expression is associated with metastasis and poor prognosis in invasive breast cancer. *Int J Oncol*. 2001;18:513-20. PMID: 11179480. doi: 10.3892/ijo.18.3.513
31. Paredes J, Figueiredo J, Albergaria A, Oliveira P, Carvalho J, Ribeiro AS, et al. Epithelial E and P cadherins: Role and clinical significance in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1826:297-311. PMID: 22613680. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.05.002
32. Wendt MK, Taylor MA, Schiemann BJ, Schiemann WP. Down-regulation of epithelial cadherin is required to initiate metastatic outgrowth of breast cancer. *Mol Biol Cell*. 2011;22:2423-35. PMID: 21613543. PMCID: PMC3135469. doi: 10.1091/mbc.E11-04-0306
33. Romaniuk A, Lyndin M, Sikora V, Lyndina Y, Panasovska K. Histological and immunohistochemical features of medullary breast cancer. *Folia Med Cracov*. 2015;55(2):41-8. PMID: 26839242
34. Gould Rothberg BE, Bracken MB. E-cadherin immunohistochemical expression as a prognostic factor in infiltrating ductal carcinoma of the breast: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;100(2):139-48. PMID: 16791476. doi: 10.1007/s10549-006-9248-2
35. Chekhun S, Bezdenezhnykh N, Shvets J, Lukianova N: Expression of biomarkers related to cell adhesion, metastasis and invasion of breast cancer cell lines of different molecular subtype. *Exp Oncol*. 2013;35(3):174-79. PMID: 24084454
36. Tang D, Xu S, Zhang Q, Zhao W. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. *Med Oncol*. 2012;29(2):526-33. PMID: 21519872. doi: 10.1007/s12032-011-9948-2

UDC 618.193-006.04-091.8:576.52

Features of the Expression of the Cell Adhesion Molecule E-Cadherin in Different Molecular Subtypes of Invasive Ductal Breast Cancer

Volos L. I., Dudash A. P.

Abstract. The purpose of the study was to determine the role of E-cadherin in the development and progression of molecular subtypes of invasive ductal breast cancer by assessing the expression of E-cadherin in various clinical and pathological prognostic parameters.

Materials and methods. We demonstrated a comprehensive morphological, including immunohistochemical study of 193 cases of invasive ductal breast cancer with the molecular phenotype definition. General histological processing of samples was performed according to standard methods. Immunohistochemical studies for E-cadherin, ER, PR, c-erbB2, Ki-67 were performed according to standardized analytically validated protocols with the necessary controls. The grade of malignancy was determined according to the modified scheme of P. Scarff, H. Bloom and W. Richardson. E-cadherin expression level was quantified in 86 observations using the Qureshi counting system. Comparison of E-cadherin expression in different clinical and pathological parameters was evaluated using Pearson's test χ^2 . For all types of analysis, differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results and discussion. E-cadherin expression in ductal breast cancer tissue is significantly lower in cases with lymph node metastases than without metastatic lymph node involvement ($\chi^2 = 4.55$, $p = 0.031$). Low expression of E-cadherin or its absence was associated with pT3 tumors, clinical stage 3, with G2 and G3 malignancies. Loss of E-cadherin expression has an unfavorable prognostic value. E-cadherin expression is associated with the molecular type of invasive breast ductal carcinoma. High E-cadherin expression was common in ER-positive tumors of the luminal A phenotype and was determined in patients of both premenopausal and postmenopausal age, suggesting that ER-positive expression may be involved in the regulation of E-cadherin expression. Low tumor activity of cells of invasive ductal breast cancer of the luminal subtype is accompanied by an increase in the adhesive properties of these cells due to the high level of expression of E-cadherin. E-cadherin is considered an independent marker of triple-negative breast cancer and is characterized by an unfavorable prognosis and short life expectancy. Triple-negative cancer was associated with a significant predominance of patients with low and negative E-cadherin expression ($p = 0.011$).

Conclusion. Thus, E-cadherin is a potent tumor suppressor of breast cancer. According to this role in the progression of breast cancer, it was found that partial or complete loss of E-cadherin expression correlates with an unfavorable prognosis in patients.

Keywords: invasive ductal breast cancer, E-cadherin expression, prognosis.

ORCID and contributionship:

Liliya I. Volos : 0000-0002-1733-589X ^{A,E,F}

Andrii P. Dudash : 0000-0002-7934-8995 ^{B,C,D}

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,
C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,
E – Critical review, F – Final approval of the article

CORRESPONDING AUTHOR

Liliya I. Volos

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Pathological Anatomy and Forensic Medicine Department

69, Pekarska Str., Lviv 79010, Ukraine

tel: +380507276193, e-mail: Liliya.volos@gmail.com

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 17.04.2022 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування