

DOI: 10.26693/jmbs07.01.068

УДК 618.193-006.04:612.015.1]-079

Волос Л. І.¹, Дудаш А. П.^{1,2}

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ СОХ-2 В РІЗНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ПІДТИПАХ ІНВАЗИВНОГО ПРОТОКОВОГО РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна²Західноукраїнська гістологічна лабораторія, Львів, Україна

Метою дослідження було визначити роль СОХ-2 у розвитку та прогресуванні молекулярних підтипів інвазивного протокового раку грудної залози шляхом порівняння ступеня експресії СОХ-2 при різних клініко-патологічних прогностичних параметрах.

Матеріали та методи. Проведене комплексне морфологічне, в тому числі імуногістохімічне дослідження 193 випадків інвазивного протокового раку грудної залози. Загальногістологічна обробка зразків виконувалася відповідно до стандартної методики. Імуногістохімічні дослідження для СОХ-2, ER, PR, c-erbB2, Ki-67 проводилися відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюями. Ступінь злоякісності визначався за модифікованою схемою P. Scarff, H. Bloom і W. Richardson. Експресію СОХ-2 оцінювали напівкількісно за допомогою системи підрахунку *Histoscore* у 86 випадків. Імунореактивний показник визначали як добуток позитивних клітин та інтенсивності забарвлення зі значенням від 0 до 12. Розподіл пухлин зі слабкою або сильною експресією СОХ-2 визначався на рівні граничного показника 6. Порівняння ступеня експресії СОХ-2 при різних клініко-патологічних параметрах оцінювали за допомогою критерію Пірсона χ^2 . Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати. Імуногістохімічне дослідження показало надмірну експресію пухлинними клітинами СОХ-2 у 53,49 [42,95-63,87] % випадків інвазивного протокового раку грудної залози, переважно у пацієнток пременопаузального віку. Підвищена експресія СОХ-2 визначалася в пухлинах з метастазами в регіонарні лімфатичні вузли (53,66 [38,46-68,52] % - 63,64 [34,52-88,13] %), великим розміром (73,81 [59,63-85,82] % - 85,71 [52,74-99,97] %), запущеною клінічною стадією (65,12 [54,78-74,78] %), з низьким ступенем диференціації G3 (80,95 [61,88-94,45] %), негативним статусом ER та надмірною експресією HER-2/neu. Надмірна експресія СОХ-2 переважала у віці до 50 років (69,23 [54,04-82,54] %), у хворих з потрійно-негативним фенотипом карциноми (75,00 [54,26-91,01] %) та Her2/neu+ фенотипом інвазивного протокового раку грудної залози (73,68 [52,19-90,47] %).

Висновки. Надекспресія СОХ-2 була пов'язана з такими чинниками несприятливого прогнозу, як молодий вік пацієнток, метастатичне ураження лімфатичних вузлів, великі розміри пухлини, низький ступінь диференціації G3, негативний статус ER та гіперекспресія HER-2/neu, і асоціюється зі збільшенням ризику виникнення рецидивів хвороби, прогресуванням пухлинного процесу, збільшенням ризику смерті. Надмірна експресія СОХ-2 може бути ознакою агресивного фенотипу з метастатичним потенціалом, залежати від гормонального статусу і бути корисною як прогностичний біомаркер інвазивного протокового раку грудної залози.

Ключові слова: інвазивний протоковий рак грудної залози, експресія СОХ-2, чинники прогнозу.

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 є одним з найбільш часто діагностованих онкологічних захворювань і основною причиною смерті від раку серед жінок у західному світі [1, 2]. Системне лікування покращує безрецидивну і загальну виживаність пацієнтів з раком грудної залози [3]. Показання до системного лікування ґрунтуються на прогностичних чинниках [4], разом з тим прогностичні чинники оцінюють ризик рецидиву у пацієнта за відсутності системної терапії і включають вік на момент встановлення діагнозу, гістологію і ступінь злоякісності пухлини, розмір пухлини, рецепторний статус і стан лімфатичних вузлів. Прогностичні чинники оцінюють чутливість пухлини до специфічного лікування, наприклад, експресію рецептора естрогену (ER) для ендокринної терапії та надмірну експресію/ампліфікацію рецептора 2 епідермального фактора росту людини (HER2) для трастузумабу.

Прогностичні чинники стають все більш важливими, оскільки відносний ризик смерті від раку

грудної залози зменшується завдяки ранній діагностиці та вдосконаленню лікування. За останні десятиліття проведено велику 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. 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.

В останні роки активно вивчаються експресія циклооксигенази-2 (COX-2) у передпухлинних утвореннях та злоякісних пухлинах грудної залози, можливі механізми реалізації та значення експресії і гіперекспресії ензиму для прогнозу раку грудної залози [5, 6]. Частота експресії COX-2 у злоякісних новоутвореннях грудної залози значно варіює – від 5 до 100% [7]. Експресія COX-2 є патологічною та індукується різними стимулюючими чинниками, фермент відіграє важливу роль у проліферації клітин. Експресія COX-2 пов'язана з неоваскуляризацією, пригніченням апоптозу, стимуляцією росту клітин та пригніченням імунітету.

Оскільки експресія COX-2 регулюється цитокінами та факторами росту, фермент відіграє важливу й багатогранну роль у проліферації клітин [8]. Існують дані про спільний стимулюючий вплив циклооксигенази-2 з фактором некрозу пухлини альфа та інтерлейкіном-1 на транскрипцію фактора росту ендотелію судин (VEGF) та його рецепторів, що призводить до неоангіогенезу [9]. Можливості використання COX-2 як фактора ризику виникнення рецидивів раку грудної залози представлені в дослідженнях, в яких ризик рецидивування при COX-позитивних пухлинах досягає 67%, при COX-негативних пухлинах – 24% [10]

Таким чином, попередні дані вказують на важливу роль COX-2 у пухлинній трансформації, проліферації клітин і неоваскуляризації, тому оцінка експресії COX-2 є важливим прогностичним чинником перебігу різних молекулярних підтипів раку грудної залози, як і доцільність виділення COX-позитивних пухлин в окрему групу для оптимізації

лікувальної тактики та використання можливостей таргетного контролю експресії ензиму. Це може бути важливим, особливо для ендокринної терапії, оскільки COX-2 каталізує перетворення арахідонової кислоти в простагландини, що стимулює ароматазу і, таким чином, утворення естрогенів.

Мета дослідження. Визначення ролі COX-2 у розвитку та прогресуванні молекулярних підтипів інвазивного протокового раку грудної залози шляхом порівняння ступеня експресії COX-2 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 набирався 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 BOOЗ [11]. Ступінь злоякісності визначався за модифікованою схемою P. Scarff, H. Bloom і W. Richardson [12].

Після вивчення клініко-патоморфологічної інформації і розподілу вибірки на молекулярні підтипи відповідно консенсусу St. Gallen 2015 [13] 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 ЄС № 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 («ДАКО», США). Зрізи дозобарвлювали гематоксиліном Майєра та заключали в канадський бальзам. ІГХ дослідження для COX-2 (моноклональні кролячі антитіла, Clone SP21, Thermo scientific), 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 контролюями. 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 [14]. 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.

Експресію COX-2 оцінювали також напівкількісно за допомогою системи підрахунку *Histocore*. Ґрунтуючись на опублікованих даних щодо можливих граничних меж, у даному дослідженні використовували просту систему оцінки, яка була ідентичною системі оцінки, що використовувалася для оцінки статусу гормональних рецепторів у пацієнтів з карциною грудної залози [14, 15], і в якій експресію COX-2 оцінювали відповідно до відсотка позитивних клітин та інтенсивності забарвлення. Відсоток позитивних клітин оцінювався як 0 (0% позитивних клітин), 1 (до 10% позитивних клітин), 2 (11–50% позитивних клітин), 3 (51–80% позитивних клітин) або 4 (більше 81%). Інтенсивність фарбування оцінювалася за ступенями: 0 (негативний, без забарвлення, «-»), 1 (слабкий ступінь, «+»),

2 (помірний ступінь, «++») або 3 (сильний ступінь, «+++»). Імунореактивний показник визначали як добуток позитивних клітин та інтенсивності забарвлення, в результаті чого отримували значення від 0 до 12. Розподіл пухлин зі слабкою експресією COX-2 або сильною експресією COX-2 визначався на рівні граничного показника 6, тобто експресія COX-2 у пухлинах від 0 до 6 у.о. означала негативну, слабку чи помірну, а 7-12 у.о. – надекспресію COX-2. 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 COX-2 при різних клініко-патологічних параметрах 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 пацієнток з інвазивним протоковим раком грудної залози. Середній вік на час встановлення діагнозу становив 54,7 років (від 28 до 85 років). У пацієнток 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%) пацієнток. 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%) пацієнток, стадію pT3 – у 19 (9,84%) хворих і стадію pT4 – відповідно у 17 (8,81%) пацієнток. 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 A – у 79 (40,93%) хворих, люмінальний B – 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%) пацієнток.

Проведене ІГХ дослідження експресії COX-2 у 86 спостереженнях із 193 випадків інвазивного протокового раку грудної залози. За допомогою імуногістохімічного аналізу COX-2 було виявлено імунореактивність різного ступеня вираження 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. СОХ-2 експресувалася у вигляді зернистої цитоплазматичної структури, яка була посилена в перинуклеарній області пухлинних клітин. Експресія СОХ-2 оцінювалася як 0 (відсутня, **рис. 1**),

1 (слабка, **рис. 2**), 2 (помірна, **рис. 3**) та 3 (сильна, **рис. 4**) на основі інтенсивності фарбування епітеліальних клітин. Надекспресія СОХ-2 встановлювалася на значенні імунореактивного показника, що дорівнював або був вищий від граничного показника 6.

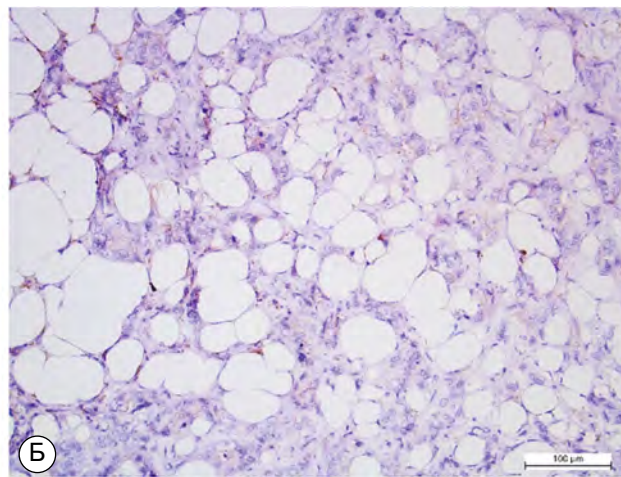
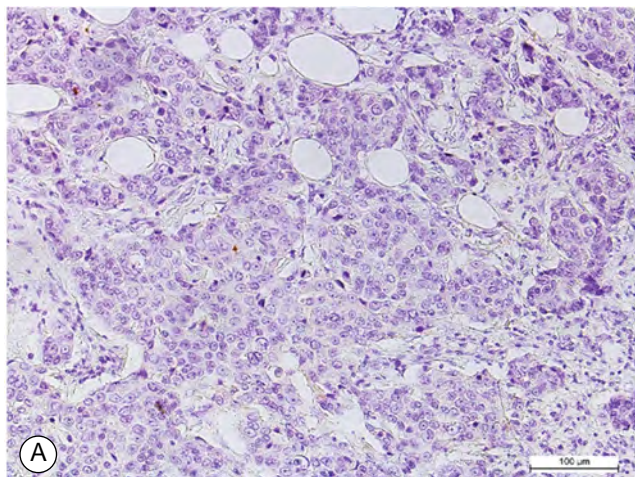


Рис. 1 – Інвазивна протокова карцинома грудної залози без імунореактивності (0 балів) з антитілами до СОХ-2 (×200)

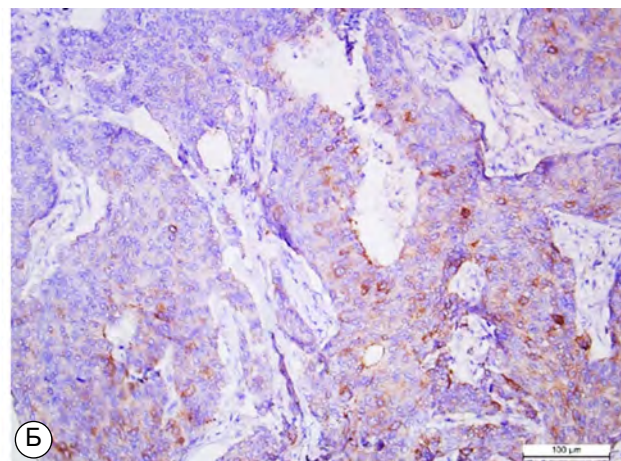
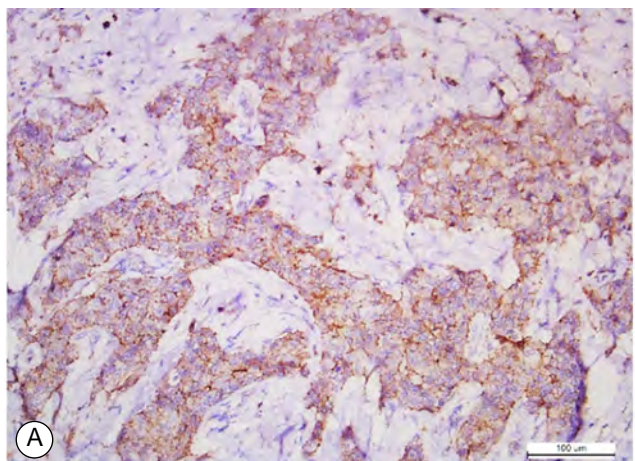


Рис. 2 – Імуногістохімічно слабка за інтенсивністю (1 бал) експресія СОХ-2 при інвазивній протоковій карциномі грудної залози. Імунореактивний показник менше 6 у.о. (×200)

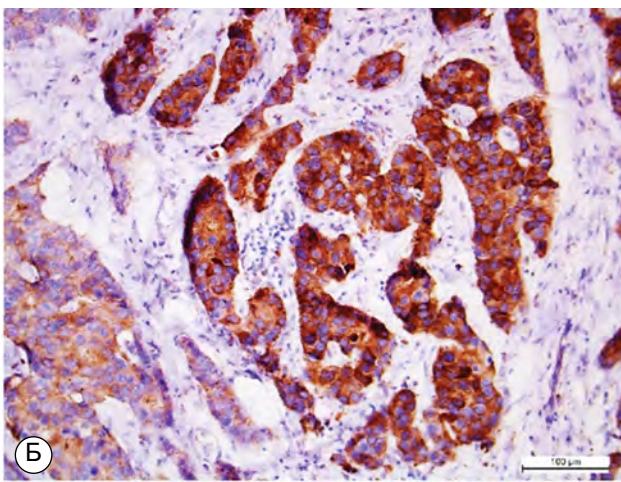
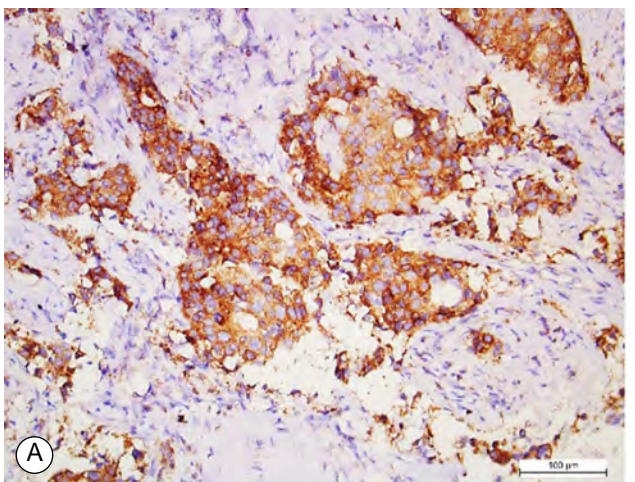


Рис. 3 – Імуногістохімічно помірна за інтенсивністю (2 бали) експресія СОХ-2 при інвазивній протоковій карциномі грудної залози. Імунореактивний показник дорівнює 6 у.о. (×200)

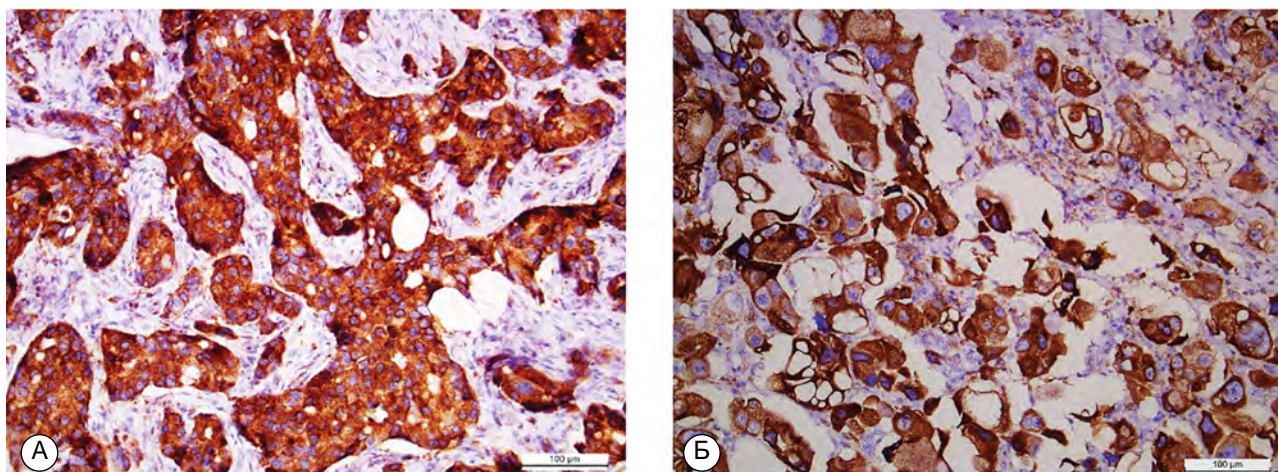


Рис. 4 – Імуногістохімічно сильна за інтенсивністю (3 бали) експресія COX-2 при інвазивній протоковій карциномі грудної залози. Імунореактивний показник 9-12 у.о. (×200)

Непухлинна тканина в безпосередній близькості до новоутворення дуже рідко експресувала COX-2 в часточках, протоках, кровоносних судинах та стромальних клітинах, до того ж інтенсивність забарвлення була дуже слабкою. Нормальна тканина подалі від пухлини не експресувала COX-2 за результатами даних досліджень.

Результати порівняння за експресією COX-2 клініко-патологічних характеристик, включаючи вік пацієнтів, стадію захворювання, розмір пухлини, ступінь злоякісності, статус лімфатичних вузлів, узагальнено в **таблиці 1**.

Надмірна експресія COX-2 спостерігалася загалом у 46 (53,49 [42,95-63,87] %) спостереженнях інвазивних протокових карцином і переважала у пацієнтів у віці до 50 років – 27 (69,23 [54,04-82,54] %), хоча хворих у віковій категорії до 50 років загалом було менше, ніж у постменопаузі і склало 39 (45,35 [35,01-55,90] %) пацієнток. Негативна реакція і слабка експресія COX-2 виявлена відповідно у 40 (46,51 [36,13-57,05] %) випадків, причому у віці до 50 років відсоток пацієнтів був меншим практично у 2 рази (30,77 [17,46-45,96] %), ніж у постменопаузі (59,57 [45,35-73,03] %), тобто слабкий ступінь експресії COX-2 переважав у віці після 50 років ($p=0,008$).

Експресія COX-2 значно була відмінна залежно від розміру пухлини: надмірна експресія COX-2 була виявлена у 44 випадках (86,27 [75,59-94,24] %) ($n=31+7+6$) пухлин, розмір яких >2 см у найбільшому вимірі, порівняно з 7 спостереженнями (13,73 [5,76-24,41] %) пухлин розміром ≤ 2 см ($p<0,001$), притому, що відсутність COX-2 чи слабка експресія саме переважала при стадії pT1 з розмірами пухлини ≤ 2 см - 21 (75,00 [57,63-88,98] %) випадків.

Експресія COX-2 також значно залежала від наявності метастазів у лімфатичних вузлах: лише 2 (28,57 [3,70-64,68] %) випадки первинних

пухлин без метастазів у лімфатичних вузлах (pN0) демонстрували надмірну експресію COX-2, тоді як випадки з позитивним статусом лімфатичних вузлів мали тенденцію до частішої надмірної експресії COX-2. Метастатичне ураження лімфатичних вузлів стадій pN1, pN2 і pN3 демонструвало підвищення надмірної експресії COX-2 відповідно у 53,66 [38,46-68,52] %, 55,66 [32,83-77,12] %, 63,64 [34,52-88,13] % пацієнтів ($p>0,05$).

Аналогічно, було досліджено експресію COX-2 при різних клінічних стадіях. Надмірна експресія COX-2 була виявлена тільки у 17,65 [3,79-38,68] % пацієнтів з 1 клінічною стадією, в той час, пацієнтів з 2 і 3 клінічними стадіями і надекспресією COX-2 було вже в понад 4 рази більше, ніж з 1 клінічною стадією, і склало 75,00 [60,60-87,01] % і 79,31 [62,97-91,81] % відповідно ($p<0,001$).

Інші значущі результати порівняння спостерігалися між експресією COX-2 і ступенем диференціації G. Із 7 (8,14 [3,33-14,81] %) випадків інвазивної протокової карциноми G1 ступеня диференціації COX-2 був відсутнім чи слабо позитивним у 6 пацієнтів (85,71 [52,74-99,97] %), і тільки в 1 випадку (14,29 [0,03-47,26] %) демонстрував надекспресію ($p=0,008$). У пацієнтів з помірно диференційованими (G2) і низько диференційованими (G3) різко зростав ступінь інтенсивності експресії одночасно з великим відсотком імунопозитивних клітин. Надмірна експресія COX-2 визначалася у 73,68 [61,59-84,19] % пацієнтів з G2 пухлинами і у 80,95 [61,88-94,45] % хворих з G3 пухлинами ($p<0,001$).

Нами також вивчено асоціацію експресії COX-2 з рецепторним статусом пухлин і молекулярно-генетичним фенотипом карцином. Результати представлено в **таблиці 2**.

Надмірна експресія COX-2 була більш поширеною в ER-негативних пухлинах, зокрема у 15 (75,00 [54,26-91,01] %, $p=0,002$) хворих з 20 з потрійно-негативним фенотипом карциноми

Таблиця 1 – Порівняння за експресією COX-2 клінічних та патологічних ознак інвазивної протокової карциноми грудної залози

Клініко-патологічні ознаки	Кількість пацієнтів (%)							p (χ ²)
	Загальна кількість		COX-2 негативна або слабка експресія (0–6 у.о.)		COX-2 надекспресія (7–12 у.о.)			
	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]		
Вік:	86	100,00	40	46,51 [36,13-57,05]	46	53,49 [42,95-63,87]	0,360	
<50	39	45,35 [35,01-55,90]	12	30,77 [17,46-45,96]	27	69,23 [54,04-82,54]	0,001	
>50	47	54,65 [44,10-64,99]	28	59,57 [45,35-73,03]	19	40,43 [26,97-54,65]	0,063	
Стадія pT:	86	100,00	35	40,70 [30,60-51,21]	51	59,30 [48,79-69,40]	0,015	
pT1 (≤2 см)	28	32,56 [23,12-42,78]	21	75,00 [57,63-88,98]	7	25,00 [11,02-42,37]	<0,001	
pT2 (>2 см, <5 см)	42	48,84 [38,38-59,35]	11	26,19 [14,18-40,37]	31	73,81 [59,63-85,82]	<0,001	
pT3 (≥5 см)	9	10,47 [4,92-17,77]	2	22,22 [2,67-53,21]	7	77,78 [46,79-97,33]	0,018	
pT4 (≥5 см, клінічні особливості)	7	8,14 [3,33-14,81]	1	14,29 [0,03-47,26]	6	85,71 [52,74-99,97]	0,008	
Лімфатичні вузли:	86	100,00	41	47,67 [37,25-58,2]	45	52,33 [41,80-62,75]	0,542	
pN0	7	8,14 [3,33-14,81]	5	71,43 [35,32-96,30]	2	28,57 [3,70-64,68]	0,109	
pN1міс (мікро)	9	10,47 [4,92-17,77]	5	55,56 [24,21-84,62]	4	44,44 [15,38-75,79]	0,637	
pN1a (1-3 л/в)	41	47,67 [37,25-58,20]	19	46,34 [31,48-61,54]	22	53,66 [38,46-68,52]	0,508	
pN2a (4-9 л/в)	18	20,93 [13,04-30,11]	8	44,44 [22,88-67,17]	10	55,66 [32,83-77,12]	0,505	
pN3a (≥10 л/в)	11	12,79 [6,61-20,63]	4	36,36 [11,87-65,48]	7	63,64 [34,52-88,13]	0,201	
Стадія клінічна:	86	100,00	30	34,88 [25,22-45,22]	56	65,12 [54,78-74,78]	<0,001	
1 (до 2 см N0, pN1міс)	17	19,77 [12,09-28,79]	14	82,35 [61,32-96,21]	3	17,65 [3,79-38,68]	<0,001	
2 (>2 см, <5 см, pN1a)	40	46,51 [36,13-57,05]	10	25,00 [12,99-39,40]	30	75,00 [60,60-87,01]	<0,001	
3 (≥5 см, N2-3, G2-3)	29	33,72 [24,17-44,00]	6	20,69 [8,19-37,03]	23	79,31 [62,97-91,81]	<0,001	
Ступінь злоякисності (G):	86	100,00	25	29,07 [20,01-39,06]	61	70,93 [60,94-79,99]	<0,001	
G1	7	8,14 [3,33-14,81]	6	85,71 [52,74-99,97]	1	14,29 [0,03-47,26]	0,008	
G2	57	66,28 [56,00-75,83]	15	26,32 [15,81-38,41]	42	73,68 [61,59-84,19]	<0,001	
G3	21	24,42 [15,98-34,00]	4	19,05 [5,55-38,12]	17	80,95 [61,88-94,45]	<0,001	
G4	1	1,16 [0-4,50]	0	0,00	1	100,00	0,157	

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

і в 14 (73,68 [52,19-90,47] %, p=0,004) із 19 хворих з Her2/neu+ фенотипом інвазивного протокового раку грудної залози. Потрібно наголосити, що надмірна експресія COX-2 визначалася у пацієнок як пременопаузального, так і постменопаузального віку.

Що стосується люмінального В раку грудної залози, то згідно з імуногістохімічною класифікацією люмінальний В тип раку грудної залози можна розділити на 2 підтипи: люмінальний В Her2/neu-негативний, який характеризується експресією ER та/або PR, негативними показниками експресії Her2/neu та високим рівнем Ki-67 (>20%), та люмінальний В Her2/neu-позитивний, якому притаманні експресія ER та/або PR, будь-який рівень Ki-67 та гіперекспресія або ампліфікація Her2/neu. У пацієнок з люмінальним В раком грудної залози з гіперекспресією Her2/neu визначалася надмірна експресія COX-2 у віковій групі до 50 років, а той час, як при іншому підтипі люмінального В раку (з негативною експресією Her2/neu та високим рівнем Ki-67) експресія була слабкою, а в деяких випадках і відсутньою.

Люмінальний А тип раку грудної залози характеризувався переважанням дуже слабкої експресії COX-2 у пацієнок як пременопаузального, так і постменопаузального віку, зокрема у 20 (80,00 [62,44-93,01] %, p<0,001) із 25 пацієнок, з них у 5 (62,50 [28,69-90,54] %, p>0,05) пременопаузального та 15 (88,24 [69,25-98,74] %, p<0,001) постменопаузального віку. Надмірна експресія COX-2 визначалася в поодиноких випадках і переважала у пацієнок пременопаузального віку (p<0,001).

На основі проведених власних досліджень та аналізу даних літератури важливо звернути увагу на роль експресії COX-2, зокрема надмірної експресії в прогнозі інвазивного протокового раку грудної залози. Циклооксигеназа (COX) є ключовим ферментом, який каталізує біосинтез простагландинів і тромбоксанів з арахідонової кислоти. На сьогоднішній день ідентифіковані дві ізоформи цього ферменту, COX-1 і COX-2, які кодуються різними генами. Обидва гени є дуже подібними, обидва ізоферменти є також подібними з практично ідентичними тривимірними структурами, при цьому центри двох COX відрізняються тільки

Таблиця 2 – Порівняння за експресією COX-2 молекулярних підтипів інвазивної протокової карциноми грудної залози

Молекулярний підтип	Кількість пацієнтів (%)						p (χ ²)
	Загальна кількість (100%)		COX-2 негативна або слабка експресія (0–6 у.о.)		COX-2 надекспресія (7–12 у.о.)		
	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	абс. дані	% [ДІ 95%]	
Молекулярні підтипи:	86	100	40	46,51 [36,13-57,05]	46	53,49 [42,95-63,87]	0,360
Вік:							
<50	39	45,35 [35,01-55,90]	12	30,77 [17,46-45,96]	27	69,23 [54,04-82,54]	0,001
>50	47	54,65 [44,1-64,99]	28	59,57 [45,35-73,03]	19	40,43 [26,97-54,65]	0,063
Люмінальний А (ER+, PR+, Her-2/neu-)	25	29,07 [20,01-39,06]	20	80,00 [62,44-93,01]	5	20,00 [6,99-37,56]	<0,001
Вік:							
<50	8	32,00 [15,54-51,19]	5	62,50 [28,69-90,54]	3	37,50 [9,46-71,31]	0,317
>50	17	68,00 [48,81-84,46]	15	88,24 [69,25-98,74]	2	11,76 [1,26-30,75]	<0,001
Люмінальний В ER+, PR+, Her-2/neu+ або ER+, PR+, Her-2/neu-, Ki-67≥20%	22	25,58 [16,97-35,28]	10	45,45 [25,64-66,05]	12	54,55 [33,95-74,36]	0,546
Вік:							
<50	13	59,09 [38,36-78,26]	3	23,08 [5,17-48,75]	10	76,92 [51,25-94,83]	0,006
>50	9	40,91 [21,74-61,64]	7	77,78 [46,79-97,33]	2	22,22 [2,67-53,21]	0,018
Her2/neu+ ER-, PR-, Her-2/neu+	19	22,09 [14,01-31,42]	5	26,32 [9,53-47,81]	14	73,68 [52,19-90,47]	0,004
Вік:							
<50	11	57,89 [35,65-78,57]	2	18,18 [2,09-45,07]	9	81,82 [54,93-97,91]	0,003
>50	8	42,11 [21,43-64,35]	3	37,50 [9,46-71,31]	5	62,50 [28,69-90,54]	0,317
Потрійно-негативний ER-, PR-, Her-2/neu-	20	23,26 [14,99-32,71]	5	25,00 [8,99-45,74]	15	75,00 [54,26-91,01]	0,002
Вік:							
<50	7	35,00 [16,18-56,66]	2	28,57 [3,70-64,68]	5	71,43 [35,32-96,30]	0,109
>50	13	65,00 [43,34-83,82]	3	23,08 [5,17-48,75]	10	76,92 [51,25-94,83]	0,006

одним амінокислотним залишком, але рівень експресії циклооксигеназ суттєво відрізняється в тканинах. COX-1 є конститутивною, тобто циклооксигеназа-1 присутня в активній формі практично у всіх органах і тканинах і відповідальна за рутинні фізіологічні функції, тоді як COX-2 є індукційною, і в звичайних умовах циклооксигеназа-2 присутня у невеликій кількості в речовині головного мозку і в корковому шарі надниркових залоз. В інших тканинах експресія COX-2 є патологічною та індукована стимулюючими факторами: цитокінами (інтерлейкінами, факторами некрозу пухлин), вільними радикалами кисню, ліпополісахаридами, активаторами тканинного плазміногену, мітогенними факторами, канцерогенами, онкогенами, включаючи v-src, v-Ha-ras, Her-2/neu і Wnt гени [16].

Експресія COX-2 сприяє канцерогенезу, під час якого активація транскрипції відбувається у відповідь на фактори росту, онкогени або втрату функції ген-супресор пухлини p53, що призводить до активації COX-2. В літературі повідомлялося, що підвищена регуляція COX-2 сприяє ангиогенезу,

пригнічує апоптоз, стимулює ріст клітин і опосередковує імунну супресію [17].

Кілька досліджень підтвердили роль простагландинів і COX-2 у зростанні та інвазивності пухлин грудної залози [18], проте роль COX-2 у раку грудної залози є менш зрозумілою, ніж її роль, наприклад, у раку товстої кишки, і лише невелика кількість досліджень на сьогодні зосереджена на експресії COX-2 при раку грудної залози. Крім того, були виявлені суперечливі дані щодо частоти експресії COX-2 при раку грудної залози. Так автори повідомляли про 85% випадків колоректального раку з надмірною частотою експресії COX-2, тоді, як у пацієнтів з раком грудної залози надмірна експресія COX-2 визначалася у 37–56% випадків [19, 20]. У проведеному дослідженні виявлено надмірну експресію COX-2 у 53,49% випадків раку грудної залози і в 46,51% слабку та негативну. Рівень надмірної експресії COX-2 (53,49%) у хворих з інфільтративним протоковим раком грудної залози, виявлений у теперішньому дослідженні, узгоджується з показниками експресії в 36–63% пухлин,

про які повідомлялося в інших дослідженнях [21, 22]. Розбіжність у частці позитивності COX-2 при раку грудної залози може бути пов'язана з різними методами оцінки результатів імуногістохімічного дослідження, наприклад, в деяких зарубіжних дослідженнях в інтерпретації COX-2 автори використовували граничне значення, яке відповідало більше 10% позитивних клітин незалежно від інтенсивності [23]. В інтерпретації COX-2 використовували значення позитивних клітин залежно від інтенсивності. Імунореактивний показник визначали як добуток позитивних клітин та інтенсивності забарвлення, в результаті чого отримували значення від 0 до 12. Розподіл пухлин зі слабкою або сильною експресією COX-2 визначався на рівні граничного показника 6, тобто експресія COX-2 у пухлинах від 0 до 6 у.о. означала слабку і помірну, а 7-12 у.о. - надекспресію COX-2. Відсоток позитивних клітин оцінювався як 0 балів за відсутності позитивних клітин, 1 бал – до 10% позитивних клітин, 2 бали – від 11 до 50% позитивних клітин, 3 бали – від 51–80% позитивних клітин або 4 бали – понад більше 81%. Інтенсивність фарбування оцінювалася за ступенями: 0 (негативний, без забарвлення), 1 (слабкий ступінь), 2 (помірний ступінь) або 3 (сильний ступінь). Надмірна експресія COX-2, визначена у даному дослідженні, узгоджується з даними літератури і є високою [24, 25].

Досліджено порівняння за експресією COX-2 різних клініко-патологічних параметрів, включаючи вік пацієнток, розмір пухлини, статус лімфатичних вузлів, клінічну стадію, ступінь злоякісності та рецепторний статус пухлин і молекулярно-генетичний фенотип карцином.

Надмірна експресія переважала у пацієнтів у віці до 50 років – 27 (69,23 [54,04-82,54] %), хоча хворих у віковій категорії до 50 років загалом було менше, ніж у постменопаузі і склало 39 (45,35 [35,01-55,90] %) пацієнток. Негативна реакція і слабка експресія COX-2 виявлена відповідно у 40 (46,51 [36,13-57,05] %) випадків, причому у віці до 50 років відсоток пацієнтів був меншим практично у 2 рази (30,77 [17,46-45,96] %), ніж у постменопаузі (59,57 [45,35-73,03] %, $p < 0,001$), тобто слабкий ступінь експресії COX-2 переважав у віці після 50 років. Попередні описані в літературі результати досліджень продемонстрували, що у пацієнтів з інвазивним протоковим раком грудної залози не було суттєвого зв'язку між експресією COX-2 та віком пацієнток на момент встановлення діагнозу ($p = 0,957$) [23].

Проведене дослідження показало, що великі розміри та запущена стадія пухлини значно були співставні з надмірною експресією COX-2. Крім того, надекспресія COX-2 частіше спостерігалася у випадках з метастазами в лімфатичні вузли. Інші

значущі результати порівняння спостерігалися між експресією COX-2 і низьким ступенем диференціації ($p < 0,001$).

У літературі також повідомлялося, що підвищена експресія COX-2 була більш поширеною в пухлинах з метастазами в пахвові лімфатичні вузли [20, 26], великим розміром [20], негативним статусом ER [20, 23], високим Ki-67 експресії [20, 23], високою експресією p53 [20] та надмірною експресією HER-2/neu [25, 27].

Встановлено, що надмірна експресія COX-2 була більш поширеною в ER-негативних пухлинах, зокрема у 15 (75,00 [54,26-91,01] %, $p = 0,002$) хворих з 20 з потрійно-негативним фенотипом карциноми і в 14 (73,68 [52,19-90,47] %, $p = 0,004$) із 19 хворих з Her2/neu+ фенотипом інвазивного протокового раку грудної залози. Потрібно наголосити, що в даних групах надмірна експресія COX-2 визначалася у пацієнток як пременопаузального, так і постменопаузального віку.

Попередні зарубіжні дослідження раку грудної залози також продемонстрували, що COX-2 надмірно експресувалася в естроген-незалежній, високо інвазивній метастатичній карциномі грудної залози [20, 24]. Окрім того, повідомлялося, що високий рівень білка COX-2 частіше відзначався в раку грудної залози з надмірною експресією HER-2/neu, порівняно з HER-2/neu-негативним статусом [25].

За результатами досліджень C J Witton et al. надекспресія COX-2 також була більш поширеною в ER-негативних пухлинах (25,0%), ніж при ER-позитивних пухлинах (19,2%), але ця різниця не була статистично значущою ($p = 0,841$). За даними авторів не було виявлено статистично значного зв'язку між COX-2 і експресією HER2 ($p = 0,863$); однак гіперекспресія COX-2 була частіше в пухлинах HER-2/neu + [23,8% (10/42)] порівняно з пухлинами HER-2/neu – [18,2% (25/137)] [23].

Dillon MF. та співав. досліджували зразки тканини раку грудної залози 560 пацієнток, доля яких простежена протягом 10 років. За допомогою імунофлюоресцентної та конфокальної мікроскопії оцінено експресію COX-2 і наявність гіперекспресії HER2/neu у вивчених зразках. Отримано дані про позитивну залежність експресій COX-2 та HER2/neu і кореляції цих тканинних маркерів з найгіршою безрецидивною виживаністю хворих [28]. Незалежно від кореляції чинників, автори відзначають несприятливу прогностичну роль наявності гіперекспресії COX-2 у хворих на рак грудної залози за рахунок збільшення ризику виникнення рецидивів хвороби, зменшення часу до прогресування хвороби, зниження показників загальної та безрецидивної виживаності і збільшення ризику смерті від подальшого прогресування COX-2-позитивних пухлин [29, 30].

Рак грудної залози відноситься до злоякісних новоутворів, чутливих до більшості сучасних протипухлинних лікарських препаратів, однак, у ряді випадків спостерігається терапевтична стійкість, обумовлена наявністю гена MDR1, що кодує трансмембранний глікопротеїн р-170 (P-gp), який перешкоджає внутрішньоклітинному накопиченню цитостатиків, зокрема доксорубіцину [31]. Використання молекулярно-генетичних методів дозволило виявити чітку асоціацію між експресією COX-2 та нестабільністю геному у клітинах раку грудної залози. Крім того, при експресії COX-2 спостерігається експресія Vcl2 і відзначається стійкість клітин до доксорубіцину, що сприяє активному зростанню пухлини. Ці дані можуть бути важливими для розробки таргетного підходу у лікуванні хворих з COX-2-позитивними пухлинами [32].

Можливості використання COX-2, як чинника ризику виникнення рецидивів раку грудної залози, представлені в роботі Kulkarni S. та співав. [10], причому ризик рецидивування при COX-позитивних пухлинах досягає 67%, при COX-негативних пухлинах – 24%. У дослідженні Zeeneldin A.A. гіперекспресія COX-2 представлена як фактор ризику появи віддалених вісцеральних метастазів при раку грудної залози [27]. За результатами авторів підвищена експресія COX-2 асоціювалася з гістологіч-

но виявленою інвазією пухлини та метастазами в лімфатичні вузли.

Висновки. Результати проведеного дослідження та аналіз літератури вказують на вагому роль COX-2 у пухлинній трансформації і проліферації клітин та негативний прогноз онкологічного захворювання.

У сукупності надмірна експресія COX-2 асоціювалася з агресивним фенотипом з метастатичним потенціалом і залежала від гормонального статусу. Ці результати вказують на те, що COX-2 може сприяти прогресії інвазивного протокового раку грудної залози і може бути одним із біомаркерів, які можна використовувати для прогнозування агресивності інвазивних протокових карцином грудної залози.

Представлені результати вказують на доцільність виділення COX-позитивних пухлин з надмірною експресією в окрему групу для оптимізації лікувальної тактики та використання можливостей таргетного контролю експресії ензиму.

Перспективи подальших досліджень. Потрібні подальші дослідження, щоб визначити, чи можуть інгібітори COX-2 бути корисними для терапії чи профілактики інфільтративної протокової карциноми грудної залози з різним молекулярно-генетичним фенотипом.

References

1. WHO, 2021 Breast cancer now most common form of cancer: WHO taking action. Available from: <https://www.who.int/news/item/03-02-2021-breast-cancer-now-most-common-form-of-cancer-who-taking-action>.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005 Mar-Apr;55(2):74-108. PMID: 15761078. doi: 10.3322/canjclin.55.2.74
3. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005 May 14-20;365(9472):1687-717. PMID: 15894097. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66544-0
4. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ; 10th St. Gallen conference. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol*. 2007 Jul;18(7):1133-44. Erratum in: *Ann Oncol*. 2007 Nov;18(11):1917. PMID: 17675394. doi: 10.1093/annonc/mdm271
5. Visscher DW, Pankratz VS, Santisteban M, Reynolds C, Ristimäki A, Vierkant RA, et al. Association Between Cyclooxygenase-2 Expression in Atypical Hyperplasia and Risk of Breast Cancer. *JNCI: J National Cancer Ins*. 2008;100(6):421-427. PMID: 18334709. doi: 10.1093/jnci/djn036
6. Yang WT, Lewis MT, Hess K et al. Decreased TGFbeta signaling and increased COX2 expression in high-risk women with increased mammographic breast density. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Jan;119(2):305-14. PMID: 19241157; PMCID: PMC5921048. doi: 10.1007/s10549-009-0350-0
7. Krcova Z, Ehrmann J, Krejci V, Eliopoulos A, Kolar Z. Tpl-2/Cot and COX-2 in breast cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2008 Jun;152(1):21-5. PMID: 18795070. doi: 10.5507/bp.2008.003
8. Hu M, Peluffo G, Chen H, Gelman R, Schnitt S, Polyak K. Role of COX-2 in epithelial-stromal cell interactions and progression of ductal carcinoma in situ of the breast. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 3;106(9):3372-7. PMID: 19218449. PMCID: PMC2642666. doi: 10.1073/pnas.0813306106
9. Zhang XH, Huang DP, Guo GL, Chen GR, Zhang HX, Wan L, et al. Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer. *BMC Cancer*. 2008;8(4). PMID: 18190720. PMCID: PMC2253544. doi: 10.1186/1471-2407-8-4
10. Kulkarni S, Patil DB, Diaz LK, Wiley EL, Morrow M, Khan SA. COX-2 and PPARgamma expression are potential markers of recurrence risk in mammary duct carcinoma in-situ. *BMC Cancer*. 2008 Jan 31;8:36. PMID: 18237383. PMCID: PMC2254431. doi: 10.1186/1471-2407-8-36

11. WHO Classification of Tumors Editorial Board, ed. WHO classification of tumors. 5th edition. Breast tumors. Lyon: *International Agency for Research on Cancer*. 2019. PMID: 32056259. doi: 10.1111/his.14091
12. 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
13. 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
14. 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):545-563. PMID: 31928354. doi: 10.5858/arpa.2019-0904-SA
15. Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologe*. 1987;3:138-140.
16. Feng Xu, Mengxin Li, Chao Zhang, Jianxiu Cui, Jun Liu, Jie Li, et al. Clinicopathological and prognostic significance of COX-2 immunohistochemical expression in breast cancer: a meta-analysis *Oncotarget*. 2017; 8:6003-6012. PMID: 27999206. PMCID: PMC5351608. doi: 10.18632/oncotarget.13990
17. Dhakal HP, Naume B, Synnestvedt M, Borgen E, Kaaresen R, Schlichting E, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in invasive breast carcinomas and its prognostic impact. *Histol Histopathol*. 2012 Oct;27(10):1315-25. PMID: 22936450. doi: 10.14670/HH-27.1315
18. Hoellen F, Kelling K, Dittmer C, Diedrich K, Friedrich M, Thill M. Impact of cyclooxygenase-2 in breast cancer. *Anticancer Res*. 2011 Dec;31(12):4359-67. PMID: 22199301
19. Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer*. 2000;89:2637-45. doi: 10.1002/1097-0142(20001215)89:12<2637::AID-CNCR17>3.0.CO;2-B
20. Ristimäki A, Sivula A, Lundin J, Lundin M, Salminen T, Haglund C, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res*. 2002 Feb 1;62(3):632-5. PMID: 11830510
21. Watanabe O, Shimizu T, Imamura H, Kinoshita J, Utada Y, Okabe T, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in malignant and benign breast tumors. *Anticancer Res*. 2003 Jul-Aug;23(4):3215-21. PMID: 12926055
22. Boland GP, Butt IS, Prasad R, Knox WF, Bundred NJ. COX-2 expression is associated with an aggressive phenotype in ductal carcinoma in situ. *Br J Cancer*. 2004;90(2):423-429. PMID: 14735188. PMCID: PMC2409574. doi: 10.1038/sj.bjc.6601534
23. Witton CJ, Hawe SJ, Cooke TG, Bartlett JM. Cyclooxygenase 2 (COX2) expression is associated with poor outcome in ER-negative, but not ER-positive, breast cancer. *Histopathology*. 2004 Jul;45(1):47-54. PMID: 15228443. doi: 10.1111/j.1365-2559.2004.01898.x
24. Half E, Tang XM, Gwyn K, Sahin A, Wathen K, Sinicrope FA. Cyclooxygenase-2 expression in human breast cancers and adjacent ductal carcinoma in situ. *Cancer Res*. 2002 Mar 15;62(6):1676-81. PMID: 11912139
25. Subbaramaiah K, Norton L, Gerald W, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in HER-2/neu-positive breast cancer: evidence for involvement of AP-1 and PEA3. *J Biol Chem*. 2002 May 24;277(21):18649-57. PMID: 11901151. doi: 10.1074/jbc.M111415200
26. Costa C, Soares R, Reis-Filho JS, Leitão D, Amendoeira I, Schmitt FC. Cyclo-oxygenase 2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer. *J Clin Pathol*. 2002 Jun;55(6):429-34. PMID: 12037025. PMCID: PMC1769664. doi: 10.1136/jcp.55.6.429
27. Zeeneldin AA, Mohamed AM, Abdel HA, Taha FM, Goda IA, Abodeef WT. Survival effects of cyclooxygenase-2 and 12-lipoxygenase in Egyptian women with operable breast cancer. *Indian J Cancer*. 2009 Jan-Mar;46(1):54-60. PMID: 19282568. doi: 10.4103/0019-509x.48597
28. Dillon MF, Stafford AT, Kelly G, Redmond AM, McIlroy M, Crotty TB, et al. Cyclooxygenase-2 predicts adverse effects of tamoxifen: a possible mechanism of role for nuclear HER2 in breast cancer patients. *Endocr Relat Cancer*. 2008 Sep;15(3):745-53. PMID: 18469157. doi: 10.1677/ERC-08-0009
29. Guo GL, Yang GL, Li ZY, You J, Yang K, Huang DP, et al. [The effect of cyclooxygenase-2 on lymphangiogenesis in breast cancer]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2008 Jan 15;46(2):132-5. [Chinese]. PMID: 18509974
30. Nassar A, Radhakrishnan A, Cabrero IA, Cotsonis G, Cohen C. COX-2 expression in invasive breast cancer: correlation with prognostic parameters and outcome. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2007 Sep;15(3):255-9. PMID: 17721268. doi: 10.1097/01.pai.0000213130.63417.b3
31. Zatelli MC, Luchin A, Tagliati F, Leoni S, Piccin D, Bondanelli M, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors prevent the development of chemoresistance phenotype in a breast cancer cell line by inhibiting glycoprotein p-170 expression. *Endocr Relat Cancer*. 2007 Dec;14(4):1029-38. PMID: 18045954. doi: 10.1677/ERC-07-0114

32. Singh B, Cook KR, Vincent L, Hall CS, Berry JA, Multani AS, et al. Cyclooxygenase-2 induces genomic instability, BCL2 expression, doxorubicin resistance, and altered cancer-initiating cell phenotype in MCF7 breast cancer cells. *J Surg Res.* 2008 Jun 15;147(2):240-6. PMID: 18498876. doi: 10.1016/j.jss.2008.02.026

UDC 618. 193 -006.04 : 612.015.1] -079

Features of the COX-2 Expression 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 COX-2 in the development and progression of molecular subtypes of invasive ductal breast cancer by comparing *COX-2 expression level* between different clinical and pathological prognostic parameters.

Materials and methods. We studied 193 cases of invasive ductal breast cancer using comprehensive morphological, including immunohistochemical methods. General histological processing of samples was performed according to standard methods. Immunohistochemical studies for COX-2, ER, PR, c-erbB2, Ki-67 were performed according to the manufacturer's protocol with the control of samples. The grade of malignancy was determined according to the modified scheme of P. Scarff, H. Bloom and W. Richardson. COX-2 expression level was quantified using the Histoscore counting system in 86 cases. Immunoreactive index was defined as the product of positive cells and color intensity with a value from 0 to 12. The distribution of tumors with weak or strong expression of COX-2 was determined at the level of limit 6. Comparison of COX-2 expression at different clinical and pathological parameters was evaluated using the criterion Pearson χ^2 . For all types of analysis, differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results and discussion. Immunohistochemical studies showed overexpression of COX-2 tumor cells in 53.49 [42.95-63.87] % of cases of invasive ductal breast cancer, mainly in premenopausal patients. Increased expression of COX-2 was determined in tumors with metastases to regional lymph nodes (53.66 66 [38.46-68.52] % - 63.64 (34.52-88.13) %), large size (73, 81 (59.63-85.82) % - 85.71 [52.74-99.97] %), running clinical stage (65.12 [54.78-74.78] %), with a low degree of differentiation G3 (80.95 [61.88-94.45] %), negative ER status and overexpression of HER-2/neu. Overexpression of COX-2 prevailed in patients under the age of 50 years (69.23 [54.04-82.54] %), in patients with triple-negative carcinoma phenotype (75.00 [54.26-91.01] %) and HER-2/neu + phenotype of invasive ductal breast cancer (73.68 [52.19-90.47] %).

Conclusion. Overexpression of COX-2 has been associated with adverse prognosis factors such as young age, metastatic lymph node involvement, large tumor size, G3 poorly differentiation (high grade), negative ER status and HER-2/neu overexpression, and has been associated with an increased risk of recurrence of the disease, progression of the tumor process, increased risk of death. Overexpression of COX-2 may be a sign of an aggressive phenotype with metastatic potential, depend on hormonal status and be useful as a prognostic biomarker of invasive ductal breast cancer.

Keywords: invasive ductal breast cancer, COX-2 expression, prognostic factors.

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 19.12.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування