

КЛИНИЧКИ ИСТРАЖУВАЊА

E-КАДЕРИНОТ И НЕГОВАТА УЛОГА КАЈ ПАЦИЕНТКИ СО СЕРОЗЕН ОВАРИЈАЛЕН КАРЦИНОМ ВО НАПРЕДНАТ СТАДИУМ

Игор Алулоски¹, Гордана Петрушевска², Славица Костадинова Куновска²¹ Универзитетска клиника за гинекологија и акушерство, Скопје, Република Македонија² Институт за патологија, Медицински факултет, Универзитет Св. Кирил и Методиј, Скопје, Република Македонија

Цитирање: Алулоски И, Петрушевска Г, Костадинова Куновска С. Е-кадеринот и неговата улога кај пациентки со серозен оваријален карцином во напреднат стадиум. Арх Ј Здравје 2017; 9 (1):41-51.

Клучни зборови: оваријален карцином, Е-кадерин, бета-катенин;

***Кореспонденција:** д-р Игор Алулоски, Универзитетска клиника за гинекологија и акушерство, Скопје, Република Македонија. E-mail: i_aluloski@hotmail.com

Примено: 13-мар-2017; **Ревидирано:** 19-мај-2017; **Прифатено:** 10-мај-2017; **Објавено:** 30-јуни-2017

Печатарски права: © 2017 Игор Алулоски. Оваа статија е со отворен пристап дистрибуирана под условите на Нелокализирана лиценца, која овозможува неограничена употреба, дистрибуција и репродукција на било кој медиум, доколку се цитираат оригиналните автор(и) и изворот.

Конкурентски интереси: Авторот изјавува дека нема конкурентски интереси.

Извадок

Оваријалниот карцином претставува петта водечка причина за смрт од која било група на карциноми и водечка причина за смрт од сите гинеколошки малигноми, помеѓу женската популација во Северна Америка и Европа. Целта на оваа студија беше да ја анализира корелацијата помеѓу експресијата на Е-кадеринот и клиничките и патохистолошките карактеристики кај серозен оваријален карцином во напреднат стадиум и нивната корелација во однос на севкупното преживување. Материјал и методи. Експресијата на Е-кадеринот беше анализирана имунохистохемски во депарафинизирани и рехидрирани ткивни пресеци, добиени од 36 пациентки со напреднат стадиум на серозен оваријален карцином, хируршки третирани поради примарното заболување, како третман од прв избор, а потоа третирани со соодветни режими на цитостатска терапија. Следните клиничко патолошките карактеристики беа вклучени во анализата: стадиумот на болеста во согласност со International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO), туморската диференцијација, бројот на митози во 10 видни полиња на големо зголемување (ВПГЗ), големината на туморско резидуално ткиво и васкуларна инвазија. Во анализата беа вклучени само пациентките со FIGO стадиум III-IV. Севкупното преживување (СП) се дефинира како изминатото време од датумот на примарниот оперативен третман до датумот на последниот контролен преглед. Анализираниот период беше од 10.01.2009-31.12.2011. Севкупното преживување беше евалуирано со помош на Kaplan-Meier методата, а log-rank тестот беше употребен за проценка на разликите помеѓу позитивната и негативната Е-кадеринска група. Мултиваријантната анализа беше комплетирана преку Cox-овиот модел. Резултати. Од направените статистички анализи беа добиени следниве резултати: Е-кадеринската имунореактивност не е во корелација со FIGO стадиумот, туморскиот градус, бројот на митози на 10ВПГЗ, големината на резидуалното туморско ткиво и васкуларната инвазија. Негативната Е-кадеринска експресија значително предвидува пократко СП ($p < 0,001$). Мултиваријантната анализа покажа дека негативната Е-кадеринска експресија ($p < 0,001$), FIGO стадиумот ($p = 0,012$) и резидуалното туморско ткиво > 1 cm по иницијалната циторедуктивна хирургија ($p < 0,001$) се предиктори за пократко СП. Заклучок. Негативната Е-кадеринска експресија како и присуството на резидуално туморско ткиво по иницијалната циторедуктивна хируршка интервенција и повисокиот FIGO стадиум по направените анализи, произлегува дека може со голема веродостојност да предвидат неповолен клинички исход кај пациентки со напреднат стадиум на серозен оваријален карцином. Негативната експресија на Е-кадеринот се покажа како сигнификантен независен предиктор за полошо СП. Е-кадеринот како маркер има прогностичко значење.

CLINICAL SCIENCE

E-CADHERIN AND ITS ROLE IN PATIENTS WITH ADVANCED SEROUS OVARIAN CARCINOMA OF THE OVARIES

Igor Aluloski¹, Gordana Petrusevska², Slavica Kostadinova Kunovska²¹ University Clinic for Obstetrics and Gynecology, Skopje, Republic of Macedonia² Institute of Pathology- Medical Faculty, Skopje, Sts Cyril and Methodius, Republic of Macedonia

Citation: Aluloski I, Petrusevska G, Kostadinova Kunovska S. E-cadherin and its role in patients with advanced serous ovarian carcinoma of the ovaries. Arch Pub Health 2017; 9(1): 41-51. [Macedonian]

Key words: ovarian cancer, E-cadherin, beta-catenin

***Correspondence:** Dr Igor Aluloski, University Clinic for Obstetrics and Gynecology, Skopje, Republic of Macedonia E-mail: i_aluloski@hotmail.com

Received: 13-Mar-2017; **Revised:** 29-May-2017; **Accepted:** 10-may-2017; **Published:** 30-Jun-2017

Copyright: © 2017 Igor Aluloski. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

Competing Interests: The author have declared that no competing interests

Abstract

Ovarian cancer is the fifth leading cause of cancer deaths and has the highest mortality rate among gynecologic cancers in women in North America and Europe. The aim of this study was to analyze the correlation between E-cadherin expression and clinical and pathohistological features and overall survival in advanced-stage serous ovarian carcinoma. Methods. The expression of E-cadherin was examined immunohistochemically in deparaffinized and rehydrated tissue samples from 36 patients with advanced-stage serous ovarian cancer, in whom surgery was first choice of treatment. All patients completed their chemotherapy treatment. Stage of the disease according to International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO), tumour differentiation, number of mitoses on 10 high-power magnification fields (HPF), the size of the residual tumour, and lymphovascular invasion were included as clinicopathological characteristics. Included were only patients with serous ovarian cancer FIGO stages III-IV. We determined the Overall survival (OS) as the time from surgery to the last follow-up date. The analyzed histological samples were retrieved from the files of the Institute of Pathology, Medical Faculty-Skopje from 2010 to 2013. We examined OS by using Kaplan-Meier method and log-rank test to assess the differences between the two E-cadherin groups, positive and negative. Multivariate analyses were done with the Cox's model. Results. Statistical analysis found that E-cadherin immunoreactivity was not in correlation with FIGO stage, tumor grade, residual tumor volume and vascular invasion. Negative E-cadherin expression predicts shorter OS ($p < 0,001$). Multivariate analyses shows that negative E-cadherin expression ($p < 0,001$), FIGO stage ($p = 0,012$) and residual tumor volume > 1 cm after primary cytoreductive surgery ($p < 0,001$) are predictors of shorter OS. Conclusion. Negative E-cadherin expression seems to predict unfavorable clinical outcome in patients with advanced serous ovarian cancer as well as higher FIGO stage and residual tumor volume after primary surgery. Negative E-cadherin expression emerges as a significant independent predictor for poorer OS. In conclusion, the analysis have revealed that E-cadherin has prognostic value as a marker.

Вовед

Оваријалниот карцином претставува петта водечка причина за смрт од која било група на карциноми и водечка причина за смрт од сите гинеколошки малигноми, помеѓу женската популација во Северна Америка и Европа.¹ Со користење на статистички модели за анализа, утврдено е дека во последниве 10 години стапките на нови случаи на оваријален карцином се намалуваат во просек за 1,1% секоја година.² Севкупната стапка на петгодишно преживување кај пациентки со оваријален карцином (за сите хистотипови и стадиуми на болеста), во тек на изминатите 40 години, покажува извесни подобрувања [1975 год. (33,7%)-2014 год. (44.1%)], но во однос на напреднатите стадиуми на епителен оваријален карцином (стадиум III+) севкупната стапка на петгодишно преживување останала релативно непроменета (31%).²

Оваријалниот карцином опфаќа 1,3% од сите случаи на карциноми во САД. Процентот е дека во 2016 година, кај околу 22 280 жени во САД бил дијагностициран оваријален карцином и дека околу 14 240 жени починале како последица од ова заболување.² Иако оваријалниот карцином не претставува најчест карцином кај жените во Република Македонија, сепак претставува честа причина за смрт поради карцином кај жените во нашата држава. Севкупната стапка на едногодишно преживување, што претставува процент на жени кои преживеле најмалку една година по дијагностицирање на карциномот, исклучувајќи ги оние кои починале од други заболувања, а припаѓаат на групата жени со оваријален карцином, изнесува 75%. Севкупната стапка на петгодишно преживување изнесува 44%, но оваа бројка варира во голема мерка во зависност од проширеноста (стадиумот) на карциномот^{2,3}.

Главната причина за лошата стапка на севкупното преживување (СП) претставува отсуството на симптоми во раниот стадиум на болеста, којашто, пак, од друга страна се детектира во напреднати стадиуми (стадиум III-IV) и тоа најчесто веќе како проширена метастатска болест, т.е. дисеминирана интраперитонеална карциноматоза.

Серозниот оваријален карцином прет-

ставува најчест тип на епителен оваријален карцином и на него отпаѓаат повеќе од 70% од инвазивните оваријални карциноми^{2,3}. Токму поради тоа, најголемиот број научноистражувачки трудови се занимаваат со различните аспекти на серозниот оваријален карцином.

Агресивната хируршка циторедукција проследена со хемотерапија резултира со комплетен клинички одговор кај 50-80% од пациентките. Кај повеќе од 70% од оние кои одговориле на терапијата (респондери) ќе дојде до повторување на болеста (релапс) во период од 24 месеци и кај повеќето од нив болеста станува резистентна на терапијата (хемотерапијата).⁵

До денес, молекуларните механизми кои им овозможуваат на оваријалните карциномски клетки да се „откачат“ од примарниот тумор и последователно да стапат во интеракција со перитонеалниот мезотел, не се јасно опишани и прецизирани, но постои голема веројатност дека во процесот е инволвирана регулираната експресија на специфични клеточни адхезивни молекули (КАМ-ли).

Но независно од сè, прифатено е дека загубата на епителната диференцијација кај карциномите, што е проследено со зголемена мобилност и инвазивност на туморските клетки, честопати е последица од редукцијата на интерклеточната поврзаност клетка-со-клетка (адхезивност)^{4,5,6}.

Различни фамилии на површински гликопротеини и гликоконјугати се одговорни за спроведување и одржување на поврзаноста клетка-со-клетка. Тоа се на пример, immunoglobulin cell-cell adhesion molecule superfamily (Ig-CAMs) и кадерин суперфамилија, како и cell-to-extracellular matrix (ECM) интеракциите, што ја овозможуваат фамилијата на интегрини и други површински клеточни рецептори како CD44 7.

Класичните прогностички фактори за оваријалниот карцином се: клиничкиот стадиум на болеста (според FIGO класификацијата), степенот на диференцијација, големината на туморот, присуството (или отсуството) на перитонеални импланти и нивната инвазивност, волуменот на резидуално ткиво и возраста на пациентката. Досега, релативно малку се знаеше за имунохистохемиските

маркери прифатени како прогностички индикатори за оваријалните карциноми. Во таа смисла посебно се истакнува значењето на атхезивната молекула, E-кадерин⁷.

Кадерините претставуваат генска суперфамилија на интегрални мембрански гликопротеини кои се одговорни во посредување на Ca²⁺-зависна поврзаност (атхезија) на клетката, по пат на хомофилни интеракции^{8,9}. Генерално, се верува дека кадерин-посредуваната поврзаност е зависна од високоспецифични и неменливи (конзервирани) цитоплазматски домени на овие КАМ-ли, кои се во интеракција со група на интрацелуларни протеини, познати како катенини¹⁰.

Губењето на функционалната експресија било на кадерините или на катенините ги компромитира атхезивните карактеристики на кадерин/катенинскиот комплекс и промовира развој на инвазивен фенотип.^{11,12} Општо кажано, лошо диференцираните, високометастатски карциномски клетки манифестираат ниски или недетектибилни нивоа на E-кадерин (E-cad), додека пак добро диференцираните, слабо метастатски карциномски клетки често ги експресираат овие форми на КАМ-ли. Исто така, идентифицирани се E-cad генски мутации во хуманите карциноми, што резултираат со експресија на нефункционални изоформи^{13,14}. И навистина, објавено е дека >80% од сите карциноми немаат експресија на една или повеќекомпоненти од E-cad/катенинскиот комплекс.¹²

Како што е веќе утврдено за други ткива, така и анализата на клеточни линии од човечки клетки од оваријалниот површински епител (ОПЕ), демонстрира индиректна корелација помеѓу E-cad експресијата и инвазивниот капацитет на овие клетки *in vitro*.¹⁵ Овие опсервации и анализи укажуваат дека E-cad игра клучна улога во неопластичната трансформација на човечките ОПЕ и дека редукцијата во експресијата на овие КАМ-ли го промовира метастатскиот потенцијал на овие клетки.

Епителниот кадерин (E-кадерин), познат и како клеточен КАМ 120/80 (клеточна атхезивна молекула), претставува 120 kDa калциум-зависна клеточна атхезивна молекула, припадник на кадеринска-

та фамилија и е мапирана на хромозомот 16q22.1.¹⁶ Овие молекули се трансмембрански гликопротеини локализирани на позицијата на тесните врски на епителните клетки и посредуваат во хомотипно клетка-со-клетка поврзување.^{17,18} Како што е веќе споменато, E-кадеринот е во асоцијација со актинскиот цитоскелет преку група мембрански асоцирани протеини, α -катенин, β -катенин и γ -катенин кои се есенцијални за одржување на стабилна E-кадерин посредувана клеточна поврзаност и е инволвиран во регулирање на клеточниот мотилитет.^{19,20,21} Губењето на E-кадеринската експресија се смета за централен настан кај туморското метастазирање, бидејќи губењето на атхезивноста помеѓу туморските клетки ја зголемува нивната способност да инвадираат локално и да се шират во далечни органи.^{18,22} Голем број имунохистохемиски студии на хумани карциноми покажале дека губењето или редуцираната експресија на E-кадеринот и на катенините често се поврзува со лоша хистолошка диференцијација, зголемен ризик од локална инвазија, метастатска болест и полошо севкупно преживување.^{19, 23-35}

Молекуларните механизми кои лежат во заднината на надолната регулација на E-кадеринот не се целосно разјаснети; сепак, мутациите и биохемиските посттранслационски модификации се потврдени кај неколку форми на карциноми вклучувајќи го и оваријалниот карцином.³⁶⁻⁴⁰

Според сето гореспоменато може да се изведе заклучок дека недвосмислено е значењето на E-кадеринот во одржување на поврзаноста, поларитетот и ориентацијата на клетките на нормалниот оваријален епител, како и во карциногенезата, развојот и прогресијата на оваријалните епителни карциноми и во нивното метастазирање. Сепак, постојат спротивставени студии во поглед на предиктивната улога на E-кадеринот. Поради сето тоа ја спроведовме оваа студија со намера да се даде придонес во растечката научна мисла за поврзаноста на овие молекуларни маркери со прогнозата и прогресијата, како и нивното директно влијание врз стапката на преживување кај оваријалниот серозен карцином во напреднат стадиум.

Целта на изработката на оваа студија беше идентификација на молекуларни маркери кои имаат доволна прогностичка и предиктивна моќ, што би можело да доведе и до евентуално модифицирање на клиничкиот пристап во менаџирањето на епителниот оваријален карцином. Оттука примарните цели на оваа студија беа: одредување на експресијата на E-кадерин кај серозен оваријален карцином со напреднат стадиум и утврдување на корелација со патолошки, клинички параметри, севкупно преживување и преживување без рекурентност на болеста, како и одредување на прогностичката и предиктивната улога на E-кадеринот кај примарен серозен оваријален карцином со напреднат стадиум.

Материјал и методи

Пациенти

За целите на студијата беа анализирани податоци добиени од постојните архивирани медицински досиеја, т.е. истории на болест на сите пациентки кои биле хоспитализирани и оперативно третирани на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство-Скопје (УГАК), во периодот 01.01.2009 год.-31.12.2011 год. (3 годишен период), под дијагноза на серозен оваријален карцином во напреднат стадиум. Пациентките беа анализирани и следени во период од 36 месеци, при што беа анализирани и стапките на севкупното преживување и стапката на преживување без рекурентност (recurrence-free survival). Хистопатолошката дијагноза беше постоперативно утврдена со анализа на оперативниот материјал на Институтот за патологија при Медицинскиот факултет, Скопје. Во студијата беавклучени 36 пациентки со напреднат стадиум на оваријален серозен карцином (FIGO III и IV стадиум).

Критериуми за вклучување во студијата: (1) изведен циторедуктивен хируршки зафат во согласност со стандардните хируршки процедури со примарна целмаксимална редукција на туморското ткиво, (2) сите пациентки кои завршиле комплетен циклус на

хемотераписки третман (6-8 циклуси *coarboxoplatin/paclitaxel* или *paclitaxel/cisplatin*), (3) достапност на примарните туморски примероци за анализа и комплетна медицинска документација. Во студијата не беа вклучени: (1) пациентки кои биле третирани со неoadjuvantна хемотерапија како примарен третман пред оперативниот зафат или кои воопшто не биле оперирани, (2) пациентки кои починале како последица од каква било постоперативна компликација (смрт настаната еден месец по оперативниот зафат), (3) пациентки кои од каква било причина не го довршиле комплетниот циклус на хемотерапија. Во студијата беа анализирани следните податоци добиени од медицинските досиеја на пациентите и хистопатолошките наоди: возраст, стадиум на болеста одреден според стандардите на Интернационалната федерација за гинекологија и акушерство (FIGO), туморскиот градус, големината на резидуалното туморско ткиво по примарниот хируршки зафат, бројот на митотски делби на 10 видни полиња со големо зголемување (ВПГЗ), присуство на лимфоваскуларна инвазија.

Димензиите за дијаметарот на резидуалното туморско ткиво беа добиени од страна на хирургот, поточно според описот кој го има дадено хирургот за текот на оперативниот зафат и степенот на циторедукцијата кој бил направен, а е документирано во оперативниот протокол кој се наоѓа во историјата на болест на секоја оперирана пациентка. Зависно од димензиите на резидуалното туморско ткиво, пациентките беа класифицирани во три групи: 1. нема видливо постоперативно резидуално туморско ткиво (0 cm), 2. мало резидуално ткиво (< 1 cm) и 3. големо резидуално ткиво (>1 cm).^{41,42} Како cutoff вредност за бројот на митотски делби на 10 ВПГЗ беа земени 12 митози за двостепен систем како што е опишано од страна на Malpica et al.⁴³, а што е прифатено подоцна од страна на Гинеколошката онколошка група (GOG). Карциномите беа градуирани или како карциноми со низок градус (скор 3-6) или со висок градус (скор 7-9), според модифицираниот систем за градуирање препорачан од страна на Shimazu и Silverberg⁴⁴.

Имунохистохемија

Пет микрометарски парафински пресеци од сите туморски ткива беа имунохистохемиски обработени. Депарфинизираните и рехидрирани ткивни пресеци беа обработени со семиавтоматизирана PT LINK имунопероксидазна техника. За детектирање на Е-кадеринот во неопластичното ткиво беше користено моноклонално антитело за Е-кадерин, клон NCH 38 (DAKO, Denmark), во разредување 1:50. Пресеците со имунохистохемиските боења беа анализирани на светлосен микроскоп NIKON 80 и фотографски документирирани.

Евалуација и квантификација на имунобоењето

Сите примероци беа анализирани од тројца независни набљудувачи кои не го знаеја клиничкиот исход.

Е-кадеринската експресија се категоризира врз основа на интензитетот на пребојувањето, процентот од циркумференцата на клеточната мембрана кој е пребоен и процентот на туморски клетки кои манифестираат пребојување на мембраната. Во својата метаанализа Peng et al.⁴⁵ утврдиле cutoff од $\geq 10\%$, што е вредност користена во повеќето студии.⁴⁶⁻⁴⁹

Имуноекспресијата на туморите беше оценувана на семиквантитативен начин во зависност од степенот на пребоеност, т.е. пропорцијата на пребоеност на клеточната мембрана, и тоа според скала од три поени од 0 до 3 (0 - комплетно отсуство на експресија, 1 - $< 10\%$, 2 - $> 10\%$ и $< 50\%$, 3 - $> 50\%$).

Статистичка анализа

За статистичка анализасе користеше статистичкиот софтвер MedCalc, верзија 12.1.4.0 2011 (Broekstraat at 52, 9030 Mariakerke, Belgium). Асоцираноста помеѓу негативната наспроти позитивната Е-кадеринска експресија и клиничкопатолошките параметри се евалуираше со користење на χ^2 тест и Fisher-овиот егзактен тест. Униваријантната анализа на преживување-

то се базираше на Kaplan-Meier-овата метода. Споредбата помеѓу кривите на преживување се анализираше со користење на Log-rank тестот. Свкупното преживување се дефинира како време помеѓу датумот на оперативниот зафат и датумот на последниот контролен преглед или датумот на смрт како последица од оваријалниот карцином. Прогностичкото значење на негативната Е-кадеринска експресија во однос на другите патолошки варијабли се процени со користење на мултиваријантната Cox-ова анализа. Вредноста на $p < 0,05$ ја сметавме за статистички сигнификантна.

Резултати

Средната возраст на пациентките изнесуваше 49 години (распон од 28-77 години). Триесет и три (92%) од пациентките беа во III стадиум и 3 (8%) во IV стадиум. За време на периодот на следење (01.01.2009-31.12.2011), од 36 пациентки вклучени во студијата, 20 (55%) од пациентките починаа како последица на причини поврзани со оваријалниот карцином. Просечното време на следење беше 24 месеци (распон од 12-36) при што просечно време на преживување изнесуваше 18 месеци (распон од 7-32).

Од анализираниите групи кај 5 (14%) тумори беше утврден низок градус, а 31 (86%) тумори беа со висок градус (табела 1).

Анализата за одредување на митотската активност кај 6 (17%) од анализираниите случаи покажа помалку од 12 митози/10 ВПГЗ. Васкуларна инвазија беше утврдена кај 22 (61%) од случаите (табела 1).

Анализата на оперативните протоколи за утврдување на големината на резидуално туморско ткиво покажа кај 24 (67%) од случаите постоење на резидуално туморско ткиво > 1 cm по иницијалната операција (табела 1).

Експресијата за Е-кадерин покажа позитивитет кај 22 (61%), а останатите 14 (39%) покажаа отсуство на експресија (табела 1).

Не беше пронајдена значајна корелација помеѓу позитивната Е-кадеринска експресија и другите клинички и хистопатолошки параметри карактер-

ристични за агресивното туморско однесување како што се FIGO стадиумот, високиот туморски градус, бројот на митози, резидуално туморско ткиво >1 cm и присуство на васкуларна инвазија.

Униваријантната анализа и Соx-овата мултиваријантна анализа на сев-

купното преживување потврдија дека негативната Е-кадеринска експресија заедно со FIGO стадиумот III/IV и присуството на резидуално туморско ткиво > 1cm по иницијалната операција се поврзани со пократко време на севкупно преживување (табела 2).

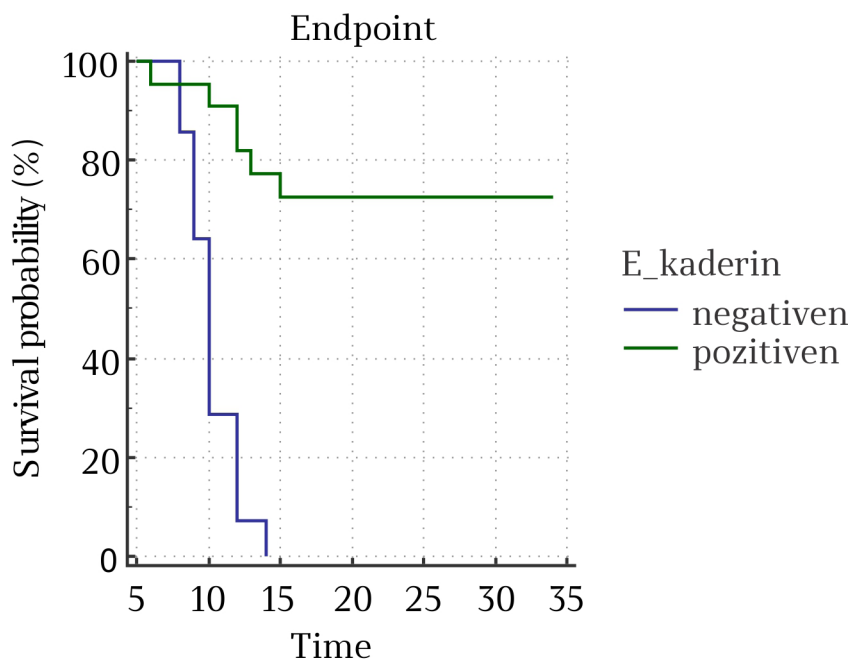
Табела 1. Сооднос помеѓу експресијата на Е-кадерин и другите клиничкопатолошки варијабли

Параметри	Бр. на пациентки (%)		Вкупно	P
	Е-кадерин Негативни	Позитивни		
Стадиум				
III	11 (33)	22 (67)	33 (92)	0,051
IV	3 (100)	0	3 (8)	
Градус				
Низок	1 (20)	4 (80)	5 (14)	0,628
Висок	13 (42)	18 (58)	31 (86)	
Бр. на митози				
< 12	1 (25)	5 (75)	6 (17)	0,370
? 12	13 (43)	17 (57)	30 (83)	
Големина на резидуално туморско ткиво				
>1 cm	10 (40)	14 (60)	24 (67)	0,889
<1cm	3 (33)	6 (67)	9 (25)	
0	1 (25)	2 (75)	3 (8)	
Васкуларна инвазија				
Да	9 (41)	13 (59)	22 (61)	0,758
Не	5 (36)	9 (64)	14 (39)	

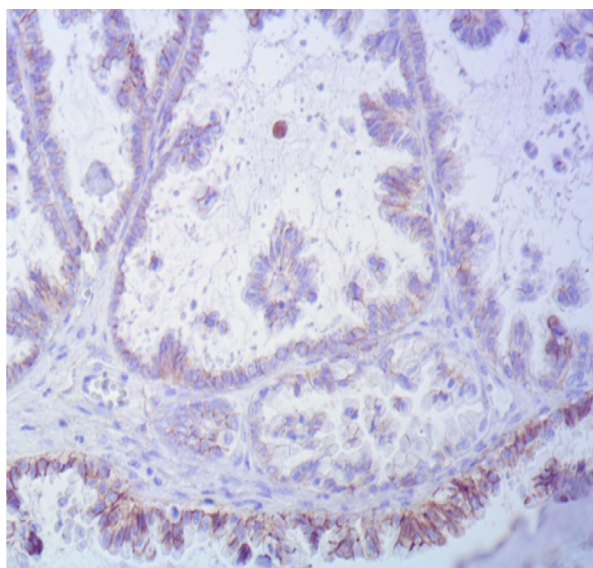
Табела 2. Мултиваријантна анализа на ефектот на Е-кадеринската експресија, FIGO стадиумот и големината на резидуалното туморско ткиво врз севкупното преживување кај 36 пациентки со напреднат стадиум на серозен оваријален карцином

Коваријанти	HR	95 % CI	P
FIGO стадиум	2,941	1,429 -6,053	0,003
III			
IV			
Е-кадерин	3,084	1,541 -6,175	0,001
Позитивен			
Негативен			
Големина на резидуално ткиво	3,193	1,884 -8,125	<0,001
>1cm			
? 1cm			

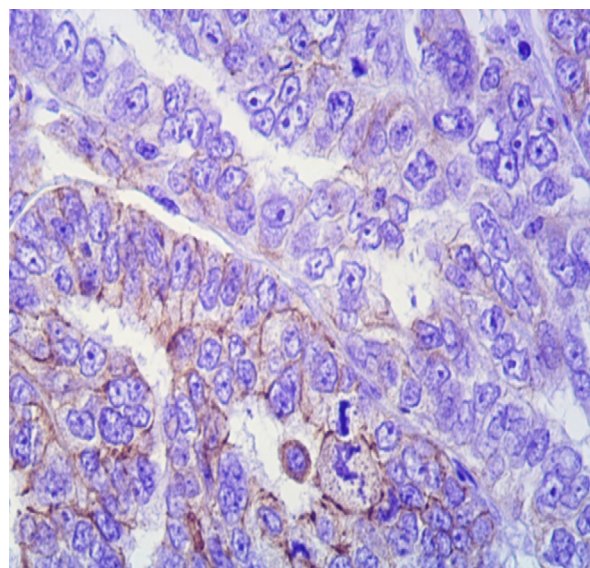
HR hazard risk, CI confidence interval



Графикон 1. Свкупно преживување и Е-кадеринската експресија кај 36 пациентки со напреднат стадиум на серозен оваријален карцином -Kaplan-Maier-ова анализа ($p < 0,001$)



Слика 1. Мембранска експресија на Е-кадеринкај серозен карцином со низок градус ($\times 100$). Интензитетот на обојувањето е варијабилен, но присутен во речиси сите клетки.



Слика 2. Мембранска експресија на Е-кадеринкај серозен карцином со висок градус ($\times 400$). Дел од клетките покажуваат губењена експресија на маркерот.

Дискусија

Целта на оваа студија е да се испита имуноекспресијата на Е-кадеринот кај примероци од карциномско ткиво, фиксирани со формалин и вклопени во

парафин, добиени од селектирана група на пациентки со напреднат стадиум на серозен оваријален карцином. Според податоците од оваа студија, Е-ка-

деринската имунорективност не е асоцирана со FIGO стадиумот, туморскиот градус, присуството на васкуларна инвазија и големината на резидуалното туморско ткиво. Овие резултати се во согласност со оние на Koensgen et al.⁵⁰, Failero-Rodrigues et al.⁵¹ и Voutilainem et al.⁵² Стапката на преживување на пациентките со негативна Е-кадеринска експресија се покажа како сигнификантно пониска во однос на стапката на преживување со позитивна Е-кадеринска експресија во униваријантната анализа. Згора на тоа, сите Е-кадерин негативни пациентки починале од причини поврзани со оваријалниот карцином за време на периодот на следење. FIGO стадиум III/IV, резидуално туморско ткиво > 1cm по циторедуктивна хирургија и негативната Е-кадеринска експресија се покажа дека се сигнификантни независни предиктори на пократко севкупно преживување.

Failero-Rodrigues et al.⁵¹, Voutilainem et al.⁵², Shim et al.⁵³ и Cho et al.⁵⁴ утврдиле поврзаност помеѓу редуцираната Е-кадеринска експресија и пократкото севкупно преживување.

Koensgen et al.⁵⁰, Dian et al.⁵⁵ и Davidson et al.⁵⁶ не успеале да ги потврдат овие наоди и не утврдиле никаков сооднос помеѓу Е-кадеринската имуноекспресија и СП. Во овие студии авторите користеле различни Е-кадерински анти тела, како и вклучување на сите FIGO стадиуми и иследување на различни хистолошки типови на оваријален карцином, иако нивните биолошки карактеристики се хетерогени.

Според нашите сознанија, ова претставува прва студија во Р.Македонија во која се користи имунохистохемиска метода за детерминирање на експресијата на Е-кадеринот во суппопулација на пациенти со напреднат стадиум на серозен оваријален карцином. Е-кадеринот претставува клеточен атхезивен протеин, кој игра една од главните улоги во одржување на интерцелуларната поврзаност во епителното ткиво. Е-кадеринот е униформно експресиран кај оваријалните инклузиони цисти, бенигните оваријални тумори и оваријални карциноми со низок малиген потенцијал.^{57,58} Е-кадеринската експресија е силно изразена кај стадиумите I и II на

оваријален карцином и сигнификантно се намалува во стадиумите III и IV.^{59,60} Општо кажано, атхезивноста помеѓу нормалните епителни клетки е силна и стабилна. За да можат туморските клетки да се дисоцираат, инвадираат и метастазираат, мора да дојде до дисрупција на поврзаноста клетка-клетка. Загубата на клеточната атхезивност посредувана преку Е-кадеринот претставува еден од клучните механизми инволвирани во метастатската конверзија на епителните клетки и на епително-мезенхимската транзиција. Заедно со надолната регулација на Е-кадеринот, утврден е и уште еден феномен познат како кадерински свич, односно нагорна регулација на други членови од кадеринската фамилија, како N или P-кадеринот, што исто така е асоцирано со лоша прогноза.⁶¹ Според резултатите на Sivertsen et al.⁶², туморските клетки во перитонеалната течност експресираат сигнификантно помалку Е-кадерин во однос на клетките од примарниот тумор. Нашите првични резултати укажуваат дека имунохистохемски негативната експресија на Е-кадеринот кај напреднатите стадиуми на оваријални серозни карциноми може да претставува маркер за селектирање на група пациентки со висок ризик од несакан клинички исход.

Заклучок

Негативната експресија на Е-кадеринот се покажа дека претставува сигнификантен независен предиктор за лошо СП. Е-кадеринот како маркер има прогностичко значење. Секако овој параметар мора да се тестира во голема проспективна студија за да може да се процени неговата клиничка релевантност.

Референци

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics 1999. *CA Cancer J* 1999;49:8–31.
2. National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Ovarian Cancer. Available from: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>

3. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(1):10-30.
4. Shiozaki H, Oka H, Inoue M, et al. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells. *Cancer* 1996; 77: 1605-1613.
5. Birchmeier W, Behrens J. Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. *BiochimBiophys Acta* 1993; 1198: 11-26.
6. Pignatelli M. E-cadherin. A biological marker of tumor differentiation. *J Pathol* 1993; 171: 81-82.
7. Aplin AE, Howe A, Alahari SK, Juliano RL. Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 197-264.
8. Takeichi M. Morphogenetic roles of the classical cadherins. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 619-27.
9. Suzuki ST. Structural and functional diversity of cadherin superfamily involved in signal transduction pathway? *J Cell Biochem* 1996; 61: 531-42.
10. Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. *Trends Genet* 1993; 9: 317-21.
11. Birchmeier W, Behrens J, Weidner KM, Frixen UH, Schipper J. Dominant and recessive genes involved in tumor cell invasion. *Curr Opin Cell Biol* 1991; 3: 832-40.
12. Okegawa T, Li Y, Pong RC, Hsieh JT. Cell adhesion proteins as tumor suppressors. *J Urol* 2002; 167: 1836-43.
13. Conacci-Sorrell M, Zhurinsky J, Ben-Ze'ev A. The cadherin-catenin adhesion system in signaling and cancer *J Clin Invest* 2002; 109: 987-91.
14. Cavallaro U, Schaffhauser B, Christofori G. Cadherins and tumor progression: is it all in a switch? *Cancer Lett* 2002; 176: 123-8
15. Auersperg N, Edelson MI, Mok SC, Johnson SW, Hamilton TC. The biology of ovarian cancer. *Semin Oncol* 1998; 25: 281-304.
16. Natt E, Magenis RE, Zimmer J, et al. Regional assignment of the human loci for ovumorulin (UVO) and chymotrypsinogen B (CTRB) with the help of two overlapping deletions on the long arm of chromosome 16. *Cytogenet Cell Genet* 1989; 50: 145-148.
17. Takeichi M. Cadherins. A molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Ann Rev Biochem* 1990; 59: 237-252.
18. Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 1991; 251: 1451-1455.
19. Hinck L, Nathke IS, Papkoff J, Nelson WJ. Dynamics of cadherin/catenin complex formation: novel protein interactions and pathways of complex assembly. *J Cell Biol* 1994; 125: 1327-1340.
20. Ozawa M, Kemler R. Molecular organization of the Uvomorulin-catenin complex. *J Cell Biol* 1992; 116: 989-996.
21. Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. *Trends Genet* 1993; 9: 317-321.
22. Frixen UH, Behrens J, Sachs M, et al. E-cadherin mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. *J Cell Biol* 1991; 113: 173-185.
23. Eidelman S, Damsky CH, Wheelock MJ, Damjanov I. Expression of the cell-cell adhesion glycoprotein Cell-CAM 120/80 in normal human tissues and tumors. *Am J Pathol* 1989; 135: 101-110.
24. Hajra KM, Fearon ER. Cadherin and catenin alterations in human cancers. *Genes Chromosom Cancer* 2002; 34: 255-268.
25. Bankfalvi A, Krabort M, Buchwalow VA, Felszeghy E, et al. Gains and losses of adhesion molecules (CD44, E-cadherin, b-catenin) during oral carcinogenesis and tumour progression. *J Pathol* 2002; 198: 343-351.
26. Yoshida R, Kimura N, Harada Y, Ohuchi N. The loss of E-cadherin, and -catenin expression is associated

- with metastasis and poor prognosis in invasive breast cancer. *Int J Oncol* 2001; 18: 513–520.
27. Endo K, Eda T, Ueyama J, Ohta T, et al. Immunoreactive E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin and gamma-catenin proteins in hepatocellular carcinoma: relationships with tumour grade, clinicopathological parameters, and patient survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558–565.
 28. Garcia del Muro X, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X. Prognostic value of expression of E-cadherin and beta-catenin in bladder cancer. *Eur J Cancer* 2000; 36: 357–362.
 29. Richmond PJK, Karayiannakis AJ, Nagafuchi A, et al. Aberrant E-cadherin and a-catenin expression in prostate cancer: Correlation with patient survival. *Cancer Res* 1997; 57: 3189–3193.
 30. Katagiri A, Watanabe R, Tomita Y. E-Cadherin expression in renal cell cancer and its significance in metastasis and survival. *Br J Cancer* 1995; 71: 376–379.
 31. Pignatelli M, Ansari TW, Gunter P, et al. Loss of membranous E-cadherin expression in pancreatic cancer: correlation with lymph node metastasis, high grade, and advanced stage. *J Pathol* 1994; 174: 243–248.
 32. Krishnadath KK, Tilanus HW, van Blankenstein M, et al. Reduced expression of the cadherin-catenin complex in oesophageal adenocarcinoma correlates with poor prognosis. *J Pathol* 1997; 182: 331–338.
 33. von Wasielewski R, Rhein A, Werner M, et al. Immunohistochemical detection of E-cadherin in differentiated thyroid carcinomas correlates with clinical outcome. *Cancer Res* 1997; 57: 2501–2507.
 34. Mattijssen V, Peters HM, Schalkwijk L, et al. E-cadherin expression in head and neck squamous-cell carcinoma is associated with clinical outcome. *Int J Cancer* 1993; 55: 580–585.
 35. Gabbert HE, Mueller W, Schneiders A, et al. Prognostic value of E-cadherin expression in 413 gastric carcinomas. *Int J Cancer* 1996; 69: 184–189.
 36. Hirohashi S. Inactivation of the E-cadherin-mediated cell adhesion system in human cancers. *Am J Pathol* 1998; 153: 333–339.
 37. Yoshiura K, Kanai Y, Ochai A, et al. Silencing of the E-cadherin invasion-suppressor gene by CpG methylation in human carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7416–7419.
 38. Hennig G, Behrens J, Truss M, et al. Progression of carcinoma cells is associated with alterations in chromatin structure and factor binding at the E-cadherin promoter in vivo. *Oncogene* 1995; 11: 475–484.
 39. Hennig G, Lowrick O, Birchmeier W, Behrens J. Mechanisms identified in the transcriptional control of epithelial gene expression. *J BiolChem* 1996; 271: 595–602.
 40. Matsuyoshi N, Hamaguchi M, Taniguchi S, et al. Cadherin-mediated cell-cell adhesion is perturbed by v-src tyrosine phosphorylation in metastatic fibroblasts. *J Cell Biol* 1992; 118: 703–714.
 41. Wimberger P, Wehling M, Lehmann N, Kimmig R, Schmalfeldt B, Burges A, Harter P, Pfisterer J, du Bois A. Influence of residual tumor on outcome in ovarian cancer patients with FIGO stage IV disease: an exploratory analysis of the AGO-OVAR (ArbeitsgemeinschaftGynaekologischeOnkologie Ovarian Cancer Study Group). *Ann SurgOncol* 2010; 17(6):1642–1648.
 42. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45(2):228–247.
 43. Malpica A, Deavers MT, Lu K, Bodurka DC, Atkinson EN, Gershenson DM, Silva EG. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am J SurgPathol* 2004; 28(4):496–504.
 44. Shimizu Y, Kamoi S, Amada S, Akiyama F, Silverberg SG. Toward the development of a universal grading system for ovarian epithelial carcinoma: testing of a proposed

- system in a series of 461 patients with uniform treatment and follow-up. *Cancer* 1998; 82(5):893–901.
45. Peng HL, He L, Zhao X. Association of reduced immunohistochemical expression of E-cadherin with a poor ovarian cancer prognosis—results of a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(5):2003–2007.
 46. Ho CM, Cheng WF, Lin MC, Chen TC, Huang SH, Liu FS, Chien CC, Yu MH, Wang TY, Hsieh CY (2010) Prognostic and predictive values of E-cadherin for patients of ovarian clear cell adenocarcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 20(9):1490–1497.
 47. Darai E, Scoazec JY, Walker-Combrouze F, Mlika-Cabanne N, Feldmann G, Madelenat P, Potet F (1997) Expression of cadherins in benign, borderline, and malignant ovarian epithelial tumors: a clinicopathologic study of 60 cases. *Hum Pathol* 28(8):922–928
 48. Cho EY, Choi Y, Chae SW, Sohn JH, Ahn GH (2006) Immunohistochemical study of the expression of adhesion molecules in ovarian serous neoplasms. *Pathol Int* 56(2):62–70.
 49. Blechschmidt K, Sassen S, Schmalfeldt B, Schuster T, Hofler H, Becker KF (2008) The E-cadherin repressor Snail is associated with lower overall survival of ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 98(2):489–495.
 50. Koengen D, Freitag C, Klamann I, Dahl E, Mustea A, Chekerov R, Braicu I, Lichtenegger W, Sehouli J. Expression and localization of e-cadherin in epithelial ovarian cancer. *Anticancer Res* 2010; 30(7):2525–2530.
 51. Faleiro-Rodrigues C, Macedo-Pinto I, Pereira D, Lopes CS. Prognostic value of E-cadherin immunoeexpression in patients with primary ovarian carcinomas. *Ann Oncol* 2004; 15(10):1535–1542.
 52. Voutilainen KA, Anttila MA, Sillanpaa SM, Ropponen KM, Saarikoski SV, Juhola MT, Kosma VM. Prognostic significance of E-cadherin-catenin complex in epithelial ovarian cancer. *J Clin Pathol* 2006; 59(5):460–467.
 53. Shim HS, Yoon BS, Cho NH. Prognostic significance of paired epithelial cell adhesion molecule and E-cadherin in ovarian serous carcinoma. *Hum Pathol* 2009; 40(5):693–698.
 54. Cho EY, Choi Y, Chae SW, Sohn JH, Ahn GH. Immunohistochemical study of the expression of adhesion molecules in ovarian serous neoplasms. *Pathol Int* 2006; 56(2):62–70.
 55. Dian D, Bruning A, Mylonas I. E-cadherin as a prognostic marker in human serous carcinomas of the ovary: an immunohistochemical analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 284(2):437–443.
 56. Davidson B, Gotlieb WH, Ben-Baruch G, Nesland JM, Bryne M, Goldberg I, Kopolovic J, Berner A. E-Cadherin complex protein expression and survival in ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2000; 79(3):362–371.
 57. Landen CN Jr, Birrer MJ, Sood AK. Early events in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(6): 995–1005.
 58. Davies BR, Worsley SD, Ponder BA. Expression of E-cadherin, alpha-catenin and beta-catenin in normal ovarian surface epithelium and epithelial ovarian cancers. *Histopathology* 1998; 32(1):69–80
 59. Imai T, Horiuchi A, Shiozawa T, Osada R, Kikuchi N, Ohira S, Oka K, Konishi I. Elevated expression of E-cadherin and alpha-, beta-, and gamma-catenins in metastatic lesions compared with primary epithelial ovarian carcinomas. *Human Pathol* 2004; 35(12):1469–1476
 60. Hudson LG, Zeineldin R, Stack MS. Phenotypic plasticity of neoplastic ovarian epithelium: unique cadherin profiles in tumor progression. *Clin Exp Met* 2008; 25(6):643–655.
 61. Cheung LW, Leung PC, Wong AS. Cadherin switching and activation of p120 catenin signaling are mediators of gonadotropin-releasing hormone to promote tumor cell migration and invasion in ovarian cancer. *Oncogene* 2010; 29(16):2427–2440.
 62. Sivertsen S, Berner A, Michael CW, Bedrossian C, Davidson B. Cadherin expression in ovarian carcinoma and malignant mesothelioma cell effusions. *Acta Cytol* 2006; 50(6):603–607.