

ეპითელიური-მეზენქიმული ტრანსფორმაციის მასახიათებლების შედარებითი ანალიზი ძუძუს HER2 პოზიტიური მოლეკულური ქვეტიპის ინვაზიური სადინროვანი კარცინომის პირველად კერას, სიმსივნურ „ზადებსა“ და მეტასტაზურ ლიმფურ კვანძებში

შოთა კეკულაძე¹; ირაკლი კობრეიძე²; გიორგი ბურკაძე³

¹თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის PhD სტუდენტი; ექიმი პათოლოგანატომი;

²თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ასოცირებული პროფესორი, მამოლოგი, PhD;

³თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი, მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი;

აბსტრაქტი:

ძუძუს კიბო არის ჰეტეროგენული დაავადება, რომელიც შეიძლება დაიყოს სხვადასხვა მოლეკულურ ქვეტიპებად, თითოეულს აქვს განსხვავებული კლინიკური და პათოლოგიური მახასიათებლები. HER2-დადებითი ძუძუს კიბო არის ქვეტიპი, რომელიც ხასიათდება HER2 პროტეინის გადაჭარბებული ექსპრესიით, რაც ასოცირდება აგრესიულ სიმსივნის ქცევასთან[1]. ითვლება, რომ ეპითელიურ-მეზენქიმული ტრანსფორმაციის პროცესი (EMT) გადამწყვეტ როლს თამაშობს სიმსივნური ინვაზიის, მეტასტაზებისა და თერაპიისადმი რეზისტენტობაში HER2-დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოს დროს. სიმსივნის მაინფილტრაციული ლიმფოციტები (TIL) წარმოადგენს მასპინძლის იმუნური პასუხის მნიშვნელოვან კომპონენტს კიბოს წინააღმდეგ და მათი არსებობა და ასევე შემადგენლობა ნაჩვენებია, რომ კორელაციაშია სხვადასხვა ტიპის კიბოს კლინიკურ გამოსავალთან, მათ შორის ძუძუს კიბოს[2], [3].

ჩვენი კვლევა მიზნად ისახავს გამოავლინოს EMT-ის ფენოტიპური ჰეტეროგენობა სიმსივნის სხვადასხვა ადგილას, მათ შორის სიმსივნის პირველად კერაში, სიმსივნის "ზადებსა" და მეტასტაზურ ლიმფურ კვანძებში HER2-ით გამდიდრებულ ძუძუს კიბოს მოლეკულურ ტიპსი. შესწავილია EMT მარკერების ექსპრესია, მათ შორის E-cadherin, Beta-catenin და vimentin და გამოვლინდა ექსპრესიის მნიშვნელოვანი სახესხვაობები. EMT-ის არსებობა სიმსივნის ძირითად კერასა და სიმსივნურ "ზადებში" დაკავშირებული იყო უფრო ცუდ კლინიკურ გამოსავალთან. გარდა ამისა, TIL-ების არსებობა და შემადგენლობა იცვლებოდა სიმსივნის უბნებს შორის და კორელაციაში იყო EMT მარკერების ექსპრესიასთან. დასკვნების

საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ რომ EMT არის ჰეტეროგენული პროცესი და რომ EMT-ის არსებობას სიმსივნის სხვადასხვა ადგილას შეიძლება ჰქონდეს განსხვავებული კლინიკური გავლენა HER2-დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოსთვის. EMT და TIL-ებთან დაკავშირებული ბიომარკერების იდენტიფიკაციამ შეიძლება ხელი შეუწყოს დამიზნებითი თერაპიების შემუშავებას და გააუმჯობესოს HER2-დადებითი ძუძუს კიბოს მქონე პაციენტებისთვის პერსონალიზირებული მკურნალობა.

საკვანძო სიტყვები: *სარძევე ჯირკვლის კიბო, HER2-დადებითი, ეპითელურ-მეზენქიმური გადასვლა, სიმსივნური კვირტები, სიმსივნური ინფილტრაციული ლიმფოციტები, ბიომარკერები,*

შესავალი

ძუძუს კიბო წარმოადგენს მთელი მსოფლიოს მასშტაბით ქალთა პოპულაციაში ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან პრობლემას და არის ყველაზე გავრცელებული კიბო ქალებში, 2020 წლის მონაცემებით დიაგნოსტირდა 2.3 მილიონი ახალი შემთხვევა . ძუძუს კიბო კომპლექსური დაავადებაა, რომელიც შეიძლება დაიყოს რამდენიმე მოლეკულურ ქვეტიპად, სპეციფიკური მარკერების ექსპრესიის არსებობის ან არარსებობის საფუძველზე. გამოყენებადი იმუნოჰისტოქიმიური ბიომარკერებია ჰორმონული რეცეპტორები (HR), ადამიანის ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორი 2 (HER2) და Ki-67. მარკერების ექსპრესიის საფუძველზე განარჩევენ ძუძუს კიბოს ოთხ ძირითად მოლეკულურ ქვეტიპის: ლუმინალ A/B ჰორმონულ რეცეპტორ-დადებითი (HR+), HER2-დადებითი (HER2+), სამმაგად უარყოფითი ძუძუს კიბო (TNBC). ჰორმონულ რეცეპტორ-დადებითი (HR+) სარძევე ჯირკვლის კიბოს, რომელიც შეადგენს ძუძუს კიბოს 60-70%-ს, ახასიათებს ესტროგენის და/ან პროგესტერონის რეცეპტორების არსებობა კიბოს უჯრედების ზედაპირზე. HER2+ სარძევე ჯირკვლის კიბო, რომელიც შეადგენს ძუძუს კიბოს 20%-ს, ხასიათდება HER2 პროტეინის გადაჭარბებული ექსპრესიით, რომელიც ხელს უწყობს კიბოს უჯრედების ზრდას და გადარჩენას. სამმაგად უარყოფითი ძუძუს კიბო, რომელიც შეადგენს ძუძუს კიბოს 10-15%-ს, არ აექსპრესირებს ამ რეცეპტორებს. ლუმინალური A/B ქვეტიპები დაკავშირებულია უკეთეს პროგნოზთან HER2+ და სამმაგად უარყოფითი ძუძუს კიბოს ქვეტიპებთან შედარებით. ძუძუს კიბოს სიხშირე განსხვავდება რეგიონის მიხედვით, უფრო მაღალია განვითარებულ ქვეყნებში. HER2+ ძუძუს კიბოს შემთხვევები გლობალურად იზრდება. შეერთებულ შტატებში, ნავარაუდები იყო, რომ 2022 წელს იქნება HER2+ სარძევე ჯირკვლის კიბოს დაახლოებით 28000 ახალი შემთხვევა. ძუძუს კიბოს მოლეკულურ კლასიფიკაციას მნიშვნელოვანი კლინიკური გავლენა აქვს პროგნოზზე, მკურნალობის შერჩევასა და პაციენტის გამოსავალზე. ამიტომ ძუძუს კიბოს მოლეკულური ქვეტიპების უკეთ გააზრება აუცილებელია პაციენტის ეფექტური პერსონალიზირებული მართვისა და ძუძუს კიბოს მკურნალობის მოსალოდნელი გართულებების თავიდან ასაცილებლად. HER2-დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოს ახასიათებს ადამიანის ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორ 2 (HER2) პროტეინის გადაჭარბებული ექსპრესია, რომელიც ხელს უწყობს კიბოს უჯრედების ზრდას და

გადარჩენას. HER2 არის ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორების (EGFR) ოჯახის წევრი და კოდირებულია ERBB2 გენით მე-17 ქრომოსომაზე. HER2 გადაჭარბებული გამოხატვა ასევე ასოცირდება არა მარტო აგრესიულ ქცევასთან არამედ რეციდივის უფრო მაღალი რისკთან და შესაბამისად შორეული მეტასტაზების არსებობასთან და მაღალ ლეტალურ მაჩვენებლებთან.

HER2-დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოს კლინიკური მართვა რთულია, რადგან ამ ტიპის სიმსივნეები ისტორიულად დაკავშირებულია ცუდ შედეგებთან. თუმცა, HER2-ზე დამიზნებითი თერაპიის დანერგვამ, როგორცაა ტრასტუზუმაბი, პერტუზუმაბი და ადო-ტრასტუზუმაბ ემტანზინი (T-DM1), მოახდინა რევოლუცია HER2-დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოს მკურნალობაში და მნიშვნელოვნად გააუმჯობესა პაციენტის შედეგები. მიუხედავად ამ თერაპიის წარმატებისა, HER2-ზე გამიზნული აგენტების მიმართ რეზისტენტობა რჩება მნიშვნელოვან გამოწვევად, რაც ხაზს უსვამს მკურნალობის ახალი სტრატეგიების საჭიროებას.

HER2 ექსპრესია რეგულარულად ფასდება სარძევე ჯირკვლის კიბოს მქონე პაციენტებში იმუნოჰისტოქიმიის (IHC) და/ან ფლუორესცენციის in situ ჰიბრიდიზაციის (FISH) ტექნიკის გამოყენებით. HER2 დადებითად განისაზღვრება, როგორც IHC 3+ ან FISH-დადებითი სიმსივნე. თუმცა, ბოლოდროინდელმა კვლევებმა აჩვენა, რომ დაბალი (low) ან ულტრა დაბალი (ultra low) HER2 ექსპრესიის მქონე პაციენტებს შეუძლიათ კვლავ ისარგებლონ HER2-ზე დამიზნებითი თერაპიული საშუალებით. აქედან გამომდინარე, იზრდება ინტერესი HER2 დადებითობის კლინიკური ზღურბლის ხელახალი განსაზღვრის მიმართ, რათა ძირითადად მიზნად ისახავს გადაიხედოს პაციენტები დაბალი HER2 ექსპრესიით, რამაც შეიძლება გააფართოოს მკურნალობის შესაძლებლობები და გააფართოოს დამიზნებითი თერაპიის პაციენტების პოპულაციები[4].

ეპითელურ-მეზენქიმური ტრანსფორმაცია (EMT) არის ბიოლოგიური პროცესი, რომლის დროსაც უჯრედები კარგავენ ეპითელურ მახასიათებლებს, როგორცაა უჯრედ-უჯრედის ადჰეზია და აპიკალურ-ბაზალური პოლარობა, და იძენენ მეზენქიმურ თვისებებს, როგორცაა გაზრდილი მოძრაობა, ინვაზიურობა და აპოპტოზისადმი წინააღმდეგობა. EMT რეგულირდება ტრანსკრიფციის ფაქტორების რთული ქსელით, სასიგნალო გზებით და უჯრედგარე მატრიქსის პროტეინებით[1], [2], [5].

ძუძუს კიბოს დროს EMT გადამწყვეტ როლს თამაშობს სიმსივნური უჯრედების ინვაზირების, მეტასტაზებისა და თერაპიისადმი რეზისტენტობის განვითარებაში. HER2-დადებითი ძუძუს კიბო ასოცირდება გაზრდილ EMT-თან დაკავშირებულ გენის ექსპრესიასთან და შესაბამისად უფრო აგრესიულ ფენოტიპთან. კვლევებმა აჩვენა, რომ HER2 სიგნალის გაშვებას შეუძლია გაააქტიუროს EMT რეგულატორები, როგორცაა Snail, Slug და Twist, რაც იწვევს EMT-ს და სიმსივნური უჯრედების გაძლიერებულ მიგრაციას და შეჭრას. უფრო მეტიც, EMT დაკავშირებულია HER2-ზე დამიზნებითი თერაპიისადმი რეზისტენტობასთან, რაც ხაზს უსვამს ძუძუს კიბოს დროს HER2 სიგნალის გადაცემასა და EMT-ს შორის ურთიერთქმედების გაგების მნიშვნელობას[6], [7].

რამდენიმე EMT მარკერი იდენტიფიცირებულია, როგორც პოტენციური თერაპიული სამიზნე ძუძუს კიბოს დროს. მაგალითად, EMT ტრანსკრიფციის ფაქტორი, Twist, ნაჩვენებია, რომ ხელს უწყობს ძუძუს კიბოს მეტასტაზებს და არის პოტენციური თერაპიული სამიზნე.

გარდა ამისა, EMT-ის გამომწვევი სასიგნალო გზის, TGF- β , დათრგუნვა შემოთავაზებულია, როგორც HER2-დადებითი ძუძუს კიბოს პოტენციური თერაპია. თუმცა, საჭიროა შემდგომი კვლევები, რათა განისაზღვროს EMT მარკერების დამიზნებითი თერაპიის კლინიკური ეფექტურობა და უსაფრთხოება ძუძუს კიბოს მკურნალობაში.

სიმსივნური ინფილტრაციული ლიმფოციტები (TILs) არის იმუნური უჯრედების ჰეტეროგენული პოპულაცია, რომლებიც შედიან სიმსივნის მიკროგარემოში სიმსივნური ანტიგენების არსებობის საპასუხოდ. TIL-ები განიხილება კიბოს წინააღმდეგ მასპინძლის იმუნური პასუხის მნიშვნელოვან კომპონენტად და ნაჩვენებია, რომ მათი არსებობა და შემადგენლობა დაკავშირებულია სხვადასხვა ტიპის კიბოს კლინიკურ შედეგებთან, მათ შორის ძუძუს კიბოს[8], [9].

TIL შედგება სხვადასხვა ტიპის იმუნური უჯრედებისგან, მათ შორის T უჯრედები, B უჯრედები, ბუნებრივი მკვლელი (NK) უჯრედები და დენდრიტული უჯრედები და სხვა[7], [10].

TIL-ები შეიძლება დაიყოს ორ ძირითად კატეგორიად მათი ლოკალიზაციის მიხედვით სიმსივნესთან მიმართებაში: ინტრატუმორული TIL-ები, რომლებიც განლაგებულია თავად სიმსივნურ ქსოვილში და პერიტუმორული TIL-ები, რომლებიც განლაგებულია სიმსივნის პერიფერიაზე.

TIL-ების შეფასება სარძევე ჯირკვლის კიბოში, როგორც წესი, ხორციელდება სტანდარტიზებული ჰისტოპათოლოგიური მეთოდების გამოყენებით, რაც გულისხმობს ლიმფოციტების რაოდენობრივ განსაზღვრას სიმსივნის სტრომაში. ყველაზე ხშირად გამოყენებული პროტოკოლები TIL-ის შეფასებისთვის ძუძუს კიბოსთვის არის საერთაშორისო TILs სამუშაო ჯგუფის (ITWG) რეკომენდაციები და TILs in Breast Cancer International Consortium (TNBC-IC) გაიდლაინები. ეს პროტოკოლები განსხვავდება TIL ქვეტიპების განმარტებით და TIL რაოდენობრივი განსაზღვრისთვის გამოყენებული მეთოდებით[11], [12].

ბოლო კვლევებმა გამოავლინა ციფრული პათოლოგიისა და გამოსახულების ანალიზის ტექნიკის ახალი მიდგომებით TIL-ების შეფასებისას უფრო ზუსტი და ობიექტური რაოდენობრივი განსაზღვრა, რამაც კიდევ უფრო შეიძლება ხელი შეუწყოს TIL გაზომვების ინტეგრაციას რუტინულ კლინიკურ პრაქტიკაში.

HER2-დადებითი ძუძუს კიბოს შემთხვევაში, არსებობს მზარდი მტკიცებულება, რომელიც მიუთითებს დადებით კორელაციაზე TIL-ების არსებობასა და კლინიკურ გამოსავალს შორის. რამდენიმე კვლევამ ასევე აჩვენა მნიშვნელოვანი კავშირი TIL-ის მაღალ დონესა და გაუმჯობესებულ გადარჩენას შორის HER2-დადებით სარძევე ჯირკვლის კიბოთი

დაავადებულ პაციენტებში, რომლებიც მკურნალობდნენ HER2-დამიზნებითი თერაპიებით[8], [13].

თუმცა, HER2-დადებითი ძუძუს კიბოს კლინიკური შედეგების პროგნოზირებისთვის TIL-ების ოპტიმალური დონე და ასევე მისი შემადგენლობა რჩება ჯერკიდევ შესწავლის საგანი და საჭიროა შემდგომი კვლევები ამ გარემოში TIL გაზომვების კლინიკური სარგებლობის დასადგენად.

PD-L1 (დაპროგრამებული სიკვდილის-ლიგანდი 1) არის ცილა, რომელიც გამოხატულია ზოგიერთი უჯრედის, მათ შორის კიბოს უჯრედების ზედაპირზე, და ურთიერთქმედებს **PD-1**-თან (დაპროგრამებული უჯრედის სიკვდილის ცილა 1) **T უჯრედების ზედაპირზე** მათი აქტივობის დათრგუნვის მიზნით. ეს ურთიერთქმედება არის ერთ-ერთი მექანიზმი, რომლითაც კიბოს უჯრედებს შეუძლიათ თავი აარიდონ იმუნურ სისტემას და თავიდან აიცილონ განადგურება[9], [14].

HER2-დადებითი ძუძუს კიბოს დროს PD-L1 ექსპრესიის შეფასება გახდა კვლევის მნიშვნელოვანი სფერო ამ ქვეტიპის მკურნალობაში PD 1/PD-L1 ინჰიბიტორების პოტენციური როლის გამო. კლინიკურმა კვლევებმა აჩვენა პერსპექტიული შედეგები PD-1/PD-L1 ინჰიბიტორების გამოყენებისას HER2-დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოს დროს, განსაკუთრებით HER2-ზე გამიზნულ თერაპიასთან ერთად[15]–[17].

რამდენიმე კვლევამ გამოიკვლია PD-L1-ის გამოხატულება HER2 დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოში და მოხსენებული იქნა PD-L1 ექსპრესიის ცვლადი მაჩვენებლები. ზოგიერთმა კვლევამ ასევე აჩვენა, რომ PD-L1 ექსპრესია დაკავშირებულია ცუდ პროგნოზთან HER2-დადებითი სარძევე ჯირკვლის კიბოს დროს, ზოგი კი არ აღნიშნავს მნიშვნელოვან კავშირს. თუმცა, PD-L1 ექსპრესიის კლინიკური მნიშვნელობა HER2-დადებით სარძევე ჯირკვლის კიბოსთვის ჯერ კიდევ გაურკვეველია და საჭიროა შემდგომი კვლევა PD-L1 ექსპრესიის შეფასების ოპტიმალური მეთოდების დასადგენად და ამ ქვეტიპში მისი პროგნოზირებადი მნიშვნელობის უფრო ზუსტად განსაზღვრის მიზნით.

სიმსივნის „ბადები“ განისაზღვრება, როგორც სიმსივნური უჯრედების მცირე ან ცალკეული უჯრედები, რომლებიც დისოცირდება სიმსივნის ძირითადი კერიდან და შემოიჭრება მიმდებარე სტრომაში. ნაჩვენებია, რომ სიმსივნის “ბადები” დაკავშირებულია სიმსივნის უფრო აგრესიულ ქცევასთან, ლიმფურ კვანძებში მეტასტაზების გაზრდილ ალბათობასთან და ზოგად ცუდ პროგნოზთან რამდენიმე ტიპის კიბოს, მათ შორის ძუძუს კიბოს. ვარაუდობენ, რომ სიმსივნის “ბადები” შეიძლება იყოს ჩართული ეპითელურ-მეზენქიმული ტრანსფორმაციის პროცესში (EMT).

სიმსივნის “ბადები” გამოხატავს მეზენქიმურ მარკერებს და შესაბამისად, ისინი შეიძლება წარმოადგენენ კიბოს უჯრედების ქვეპოპულაციას, რომლებმაც გაიარეს EMT.

TIL-სა და სიმსივნურ “ზადებს” შორის ურთიერთობა EMT-ის კონტექსტში არის აქტიური კვლევის სფერო და შეიძლება ჰქონდეს გავლენა ძუძუს კიბოს მკურნალობის ახალი თერაპიული სტრატეგიების შემუშავებაზე.

სიმსივნური “ზადები” დამხმარე პროგნოზული ფაქტორია კიბოს რამდენიმე სახეობაში, მათ შორის ძუძუს კიბოსთვის. ძუძუს კიბოს სიმსივნური “ზადების” შესაფასებლად რეკომენდებული პროტოკოლი მოიცავს ოთხამდე სიმსივნური უჯრედის კლასტერის იდენტიფიცირებას პირველადი სიმსივნის ყველაზე ინვაზიურ ადგილებში.

ანდროგენული რეცეპტორი (AR) არის ბირთვული ჰორმონის რეცეპტორი, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ძუძუს ნორმალური ქსოვილის ზრდასა და განვითარებაში. ანდროგენული რეცეპტორის კლინიკური მნიშვნელობა ძუძუს კიბოსთვის პათოგენეზში კომპლექსურია და ჯერ ბოლომდე არ არის შესწავლილი.

ზოგიერთმა კვლევამ აჩვენა, რომ ანდროგენის ექსპრესიის მაღალი დონე ასოცირდება უკეთეს პროგნოზთან და ენდოკრინულ თერაპიაზე პასუხთან, ზოგი კი პირიქით. იზრდება ინტერესი ანდროგენული რეცეპტორის დამიზნებითი თერაპიის პოტენციური როლის მიმართ ძუძუს კიბოს დროს, განსაკუთრებით სამმაგ-უარყოფითი ძუძუს კიბოს შემთხვევებში.

EMT-ის ფენოტიპური ჰეტეროგენურობის გამოკვლევა სიმსივნის ძირითად კერაში, სიმსივნურ „ზადებსა“ და მეტასტაზურ ლიმფურ კვანძებში გადამწყვეტია სიმსივნის პროგრესირების დინამიკის გასაგებად და ეფექტური თერაპიული სტრატეგიების შემუშავებისთვის. EMT მარკერების დამიზნება და იმუნური პასუხის მოდულაცია არის პერსპექტიული სტრატეგიები პაციენტის შედეგების გასაუმჯობესებლად. HER2 სიგნალის გადაცემის, EMT-სა და იმუნურ პასუხს შორის ურთიერთქმედების გაგება შეიძლება დაეხმაროს HER2+ ძუძუს კიბოს უფრო ეფექტური მკურნალობის განვითარებაში.

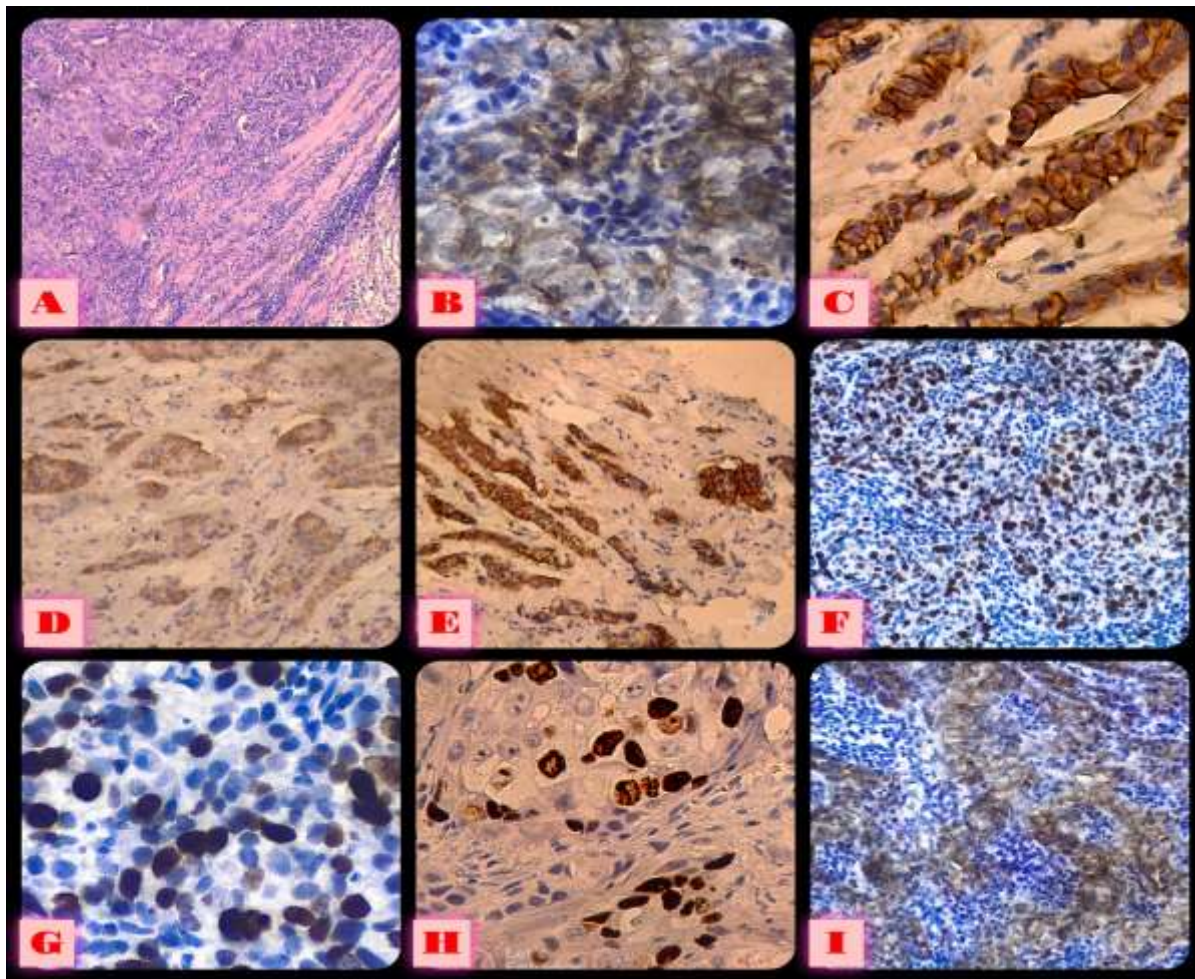
მასალა და მეთოდები

განხორციელებული იქნა რეტროსპექტიული კვლევა, რომლის ფარგლებშიც გამოყენებული იქნა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სასწავლო, სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის არაპერსონალიზებულ ფორმალინში ფიქსირებულ და პარაფინში ჩაშენებულ (FFPE) ბლოკების 2018-2023 წლებში საარქივო მასალა. კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმს წარმოადგენდა ძუძუს ინვაზიური სადინრის კარცინომის HER2 პოზიტიური მოლეკულური ქვეტიპის მხოლოდ პოსტოპერაციული შემთხვევები.

კვლევა მხარდაჭერილის თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკის კომისიის მიერ და ნიმუშების შეგროვებისა და დამუშავების დროს დაცული იყო CAP-ის გაიდლაინები და შესაბამისი პროტოკოლები (**Protocol for the Examination of Resection Specimens from Patients with Invasive Carcinoma of the Breast Version: 4.8.1.0 Protocol Posting Date: March 2023**)

შემთხვევათა საერთო რაოდენობა შეადგენდა 30 პაციენტს. პაციენტთა საშუალო ასაკი იყო 42 წელი. ნეგატიური ლიმფური კვანძების შემთხვევები კვლევაში არ იქნა ჩართული. არცერთ პაციენტს ნეოადიუვანტური ქიმიოთერაპია არ ჩატარებია.

კვლევამ შეაფასა სხვადასხვა პარამეტრი, მათ შორის სიმსივნის სტადია, პაციენტის ასაკი, სიმსივნის დიფერენციაციის ხარისხი და ლიმფოვასკულური ინვაზია. სიმსივნური „ბადები“ შეფასდა რაოდენობრივი შეფასების მეთოდით. სიმსივნის ინფილტრაციული ლიმფოციტების პროცენტული მაჩვენებელი ასევე შეფასდა საერთაშორისო TILs სამუშაო ჯგუფის მიერ მოწოდებული რეკომენდაციების მიხედვით.



სურათი N1: A. H&E ტექნოლოგია:100X.სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტები 50%; B. IHC ტექნოლოგია: 400X.ვიმენტინის ექსპრესია სიმსივნის-ბადები; C. IHC ტექნოლოგია: 400X.E-კადჰერინის ექსპრესია სიმსივნის ძირითად კერაში; D.IHC ტექნოლოგია: 200X.E-კადჰერინის ექსპრესია სიმსივნის-ბადები F.IHC ტექნოლოგია: 200X. ბეტა-კატენინის ექსპრესია სიმსივნის ძირითად კერაში; G. IHC ტექნოლოგია: 400X.ბეტა-კატენინის ექსპრესია სიმსივნის-ბადები; H.IHC ტექნოლოგია: 400X.Ki67-ის ექსპრესია სიმსივნის-ბადები; I. IHC ტექნოლოგია: 200X.ვიმენტინის ექსპრესია სიმსივნის ძირითად კერაში;

იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი ჩატარდა Leica-ს პირველადი ანტისხეულების გამოყენებით Vimentin, Beta-catenin, E-cadherin, Androgen Receptor, PD-L1, Ki67 და p53 ექსპრესიის შესაფასებლად.

ანტისხეულების ექსპრესია შესაფასდა ოთხ კომპონენტში: სიმსივნის ორი უბანი, სიმსივნური "ზადები" და მეტასტაზირებული ლიმფური კვანძების დეპოზიტები. სიმსივნის ეპიცენტრის ორი რეგიონი დაშორებული იყო 1 სმ-ზე მეტით.

შეფასება განხორციელდა ორი დამოუკიდებელი პათოლოგანატომმა.

რაოდენობრივი მონაცემები გაანალიზდა შესაბამისი სტატისტიკური მეთოდების გამოყენებით. კორელაციის დასადგენად გამოყენებული იქნა Spearman-ის რანგის ტესტი, ხოლო მენ-უიტნის და კრუსკალ-უოლისის ტესტები გამოყენებული იქნა ჯგუფებს შორის შედარებითი ანალიზისთვის. მგრძობელობა და სპეციფიკურობა შეფასდა 95% სანდო ინტერვალებით. P მნიშვნელობა <0.05 ჩათვლილი იყო სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი. ყველა სტატისტიკური დამუშავებისთვის გამოყენებული იყო **IBM SPSS Statistics 28.0.1.1**

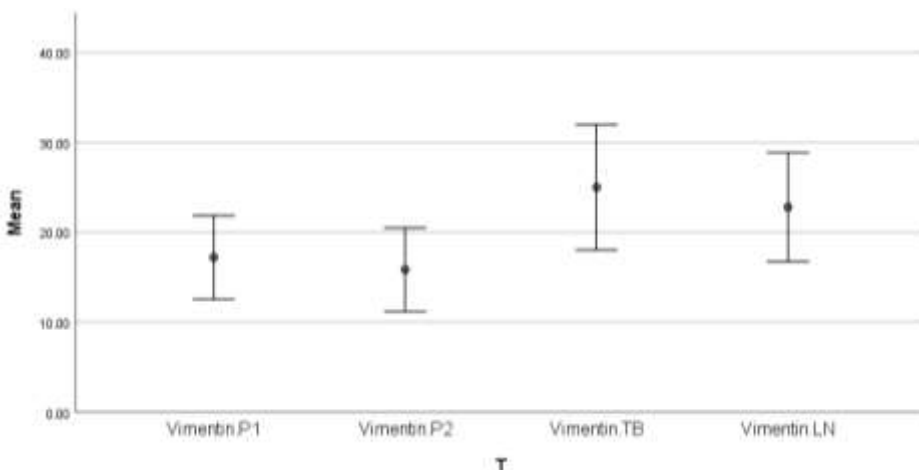
კვლევის შედეგების ანალიზისას გათვალისწინებულია მხოლოდ სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი კორელაციები.

შედეგები

კვლების შედეგების თანახმად საშუალო TIL-ების პროცენტული რაოდენობა HER2-დადებითი ძუძუს კიბოს ყველა სტადიაში აღმოჩნდა 30.8 ± 13.39 . სიმსივნის "ზადების" საშუალო რაოდენობა იყო 7.88 ± 4.63 .

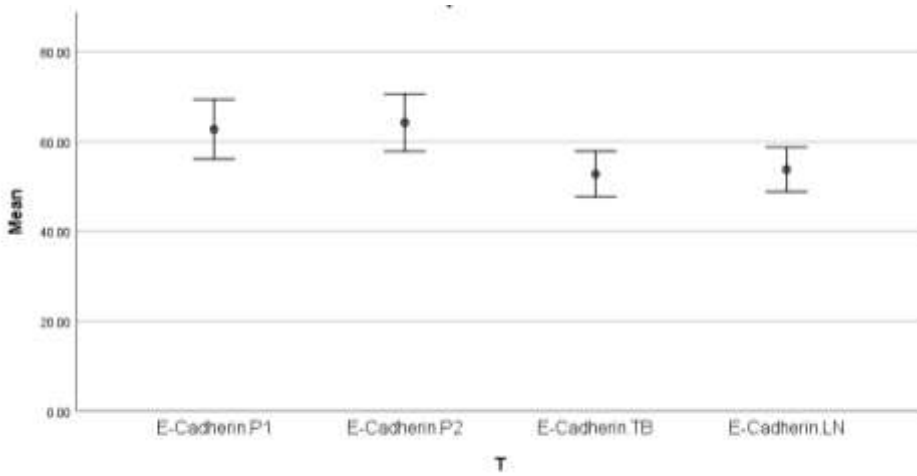
ვიმენტინისა და სხვა EMT მარკერის ექსპრესიასთან დაკავშირებით, კვლევამ აჩვენა, რომ საშუალო ექსპრესია პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1 იყო $17.2, \pm 11.05$. საშუალო ექსპრესია პირველადი სიმსივნის ფოკუსში 2 იყო 15.84 ± 11.04 . სიმსივნის „ზადებში“, საშუალო ექსპრესია იყო 25 ± 16.55 . ლიმფურ კვანძებში საშუალო ექსპრესია იყო 22.8 ± 14.43 .

სიმსივნის სხვადასხვა სტადიების თვალსაზრისით, კვლევამ აჩვენა, რომ TIL-ების საშუალო რაოდენობა ყველაზე მაღალი იყო T1 სტადიაზე (46.25), რასაც მოჰყვა T2 სტადია (32), T3 სტადია (27.86) და T4 სტადია (17.5). სიმსივნური „ზადების“, საშუალო რაოდენობა ყველაზე მაღალი იყო T4 სტადიაზე (13), რასაც მოჰყვა T3 სტადია (9.29), T2 სტადია (6.7) და T1 სტადია (3.25).



დიაგრამა1: ვიმენტინის ექსპრესია სიმსივნის სხვადასხვა სტანიაში სიმსივნის ძირითად კერაში, სიმსივნის „ბადებსა,, და მეტასტაზირებულ ლიმფურ კვანძებში;

ვიმენტინის ექსპრესია სიმსივნის ძირითადი კერის ფოკუს 1-ში იყო ყველაზე მაღალი T4 სტადიაში (25), რასაც მოჰყვა T3 სტადია (20.71), T2 სტადია (18.5) და T1 სტადია (0). ვიმენტინის ექსპრესია სიმსივნის ძირითადი კერის ფოკუს 2-ში ყველაზე მაღალი იყო T4 სტადიაში (23.75), რასაც მოჰყვა T2 სტადია (19.5), T3 სტადია (14.29) და T1 სტადია (1.5). ვიმენტინის ექსპრესია სიმსივნის „ბადებში,, ყველაზე მაღალი იყო T3 სტადიაზე (32.86), რასაც მოჰყვა T4 სტადია (30), T2 სტადია (27) და T1 სტადია (1.25). ვიმენტინის ექსპრესია ლიმფურ კვანძებში ყველაზე მაღალი იყო T3 სტადიაზე (32,86), შემდეგ T4 სტადიაზე (28,75), T2 სტადიაზე (22) და T1 სტადიაზე (1,25).

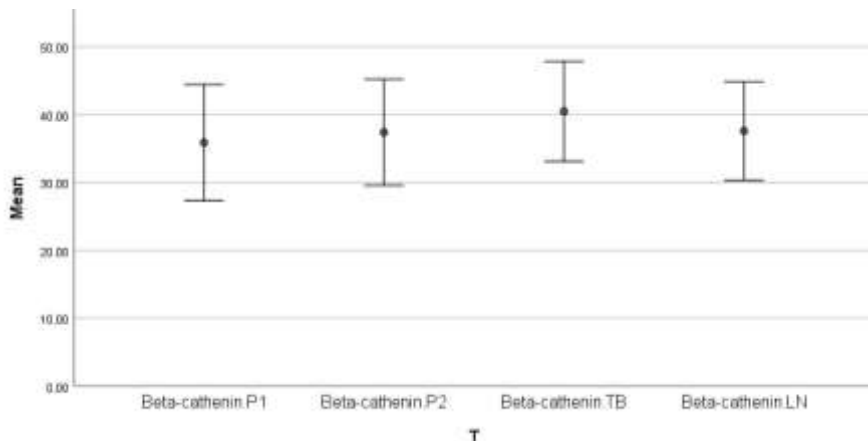


დიაგრამა2: E-კადჰერინის ექსპრესია სიმსივნის სხვადასხვა სტანიაში სიმსივნის ძირითად კერაში, სიმსივნის „ბადებსა,, და მეტასტაზირებულ ლიმფურ კვანძებში;

საერთო საშუალო E-Cadherin ექსპრესია პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1 და 2 იყო 62.72 და 64.2 შესაბამისად, ხოლო საშუალო ექსპრესია სიმსივნურ „ბადებსა,, და ლიმფურ კვანძებში აღმოჩნდა 52.72 და 53.76.

T1 სტადიაზე, საშუალო E-Cadherin ექსპრესია აღმოჩნდა ყველაზე მაღალი, მნიშვნელობებით 87.5 პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1, 85 პირველადი სიმსივნის ფოკუსში 2, 72.5 სიმსივნის „ბადებში,, და 72.5 ლიმფურ კვანძებში. T2 სტადიაზე E-Cadherin-ის საშუალო ექსპრესია შემცირდა 64.5 მნიშვნელობებით პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1, 68.5 პირველად სიმსივნის ფოკუსში 2, 50.5 სიმსივნის კვირტებში და 51 ლიმფურ კვანძებში. T3 სტადიაზე E-Cadherin-ის საშუალო ექსპრესია შედარებით მუდმივი რჩებოდა, მნიშვნელობებით 54,71 პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1, 56,43 პირველადი სიმსივნის ფოკუსში 2, 52,57 სიმსივნის „ბადებში,, და 54,86 ლიმფურ კვანძებში. T4 სტადიაზე, E-Cadherin-ის საშუალო ექსპრესია კიდევ უფრო შემცირდა, მნიშვნელობებით 47.5 პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1, 46.25 პირველადი სიმსივნის ფოკუსში 2, 38.75 სიმსივნის „ბადებში,, და 40 ლიმფურ კვანძებში.

ყველაზე დაბალი სტანდარტული გადახრა დაფიქსირდა T1 სტადიაზე, რაც მიუთითებს E-Cadherin-ის უფრო სტაბილურ ექსპრესიას. ამის საპირისპიროდ, ყველაზე მაღალი სტანდარტული გადახრის მნიშვნელობები დაფიქსირდა T3 სტადიაზე, რაც მიუთითებს ამ სტადიაში E-Cadherin გამოხატვის უფრო მეტ ჰეტეროგენულობას.



დიაგრამა 3: ბეტა-კატენინი ექსპრესია სიმსივნის სხვადასხვა სტადიაში სიმსივნის ძირითად კერაში, სიმსივნის „ბადებსა,, და მეტასტაზირებულ ლიმფურ კვანძებში;

დაფიქსირდა ბეტა-კატენინის ექსპრესიის ზრდა T1-დან T4 სტადიამდე სიმსივნის პირველად ფოკუსში. კონკრეტულად, ბეტა-კატენინის საშუალო ექსპრესია T1 სტადიაში იყო 5, T2 სტადიაში იყო 30.2, T3 სტადიაში იყო 49.29 და T4 სტადიაში იყო 57.5. უფრო მეტიც, ბეტა-კატენინის ექსპრესია ყველაზე მაღალი იყო სიმსივნურ „ბადებში,, საშუალო ექსპრესიით 40.48. სტანდარტული გადახრის მნიშვნელობები ასევე ვარაუდობს, რომ ბეტა-კატენინის ექსპრესიის ჰეტეროგენულობა ყველაზე მაღალია T2 სტადიაზე და ყველაზე დაბალი T3 სტადიაზე. საერთო ჯამში, შედეგები მიუთითებს, რომ ბეტა-კატენინის ექსპრესია დამოკიდებულია სტადიაზე და შეიძლება ჰქონდეს პოტენციური როლი სიმსივნის პროგრესირებაში.

(5) შედეგების ანალიზი

| | T | Tils | Tumor Buds | Vimentin.P1 | Vimentin.P2 | Vimentin.TB | Vimentin.LN |
|------------|---------------------|---------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| T | Pearson Correlation | 1 | -.599** | .636** | .599** | .423* | .488* |
| | Sig. (2-tailed) | | 0.002 | 0.001 | 0.002 | 0.035 | 0.013 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tils | Pearson Correlation | -.599** | 1 | -.746** | -.579** | -.451* | -.483* |
| | Sig. (2-tailed) | 0.002 | | 0 | 0.002 | 0.156 | 0.024 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tumor Buds | Pearson Correlation | .636** | -.746** | 1 | .685** | .261 | .751** |
| | Sig. (2-tailed) | 0.001 | 0 | | 0 | 0.208 | 0 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |

ცხრილი 1: პირსონის კორელაციური კავშირები შემდეგ ჯგუფებს შორის: სიმსივნის სტადია, სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტები (TILs), სიმსივნის „ბადები,, და ვიმენტინი;

კვლევის შედეგების საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ არსებობს ძლიერი დადებითი კორელაცია T-სა და Vimentin-ის ექსპრესიას შორის პირველადი სიმსივნის ფოკუსში 1 (P1), პირველადი სიმსივნის ფოკუსში 2 (P2), სიმსივნის ბადებსა (TB) და ლიმფურ კვანძებში (LN), კორელაციის კოეფიციენტებით 0,599-დან 0,601-მდე.

TILs რაოდენობა უარყოფითად არის დაკავშირებული T-სთან (კორელაციის კოეფიციენტი = -0,599) და სიმსივნურ ბადებთან (კორელაციის კოეფიციენტი = -0,746).

სიმსივნის „ბადები“ დადებითად არის დაკავშირებული ვიმენტინის ექსპრესიასთან პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1 (კორელაციის კოეფიციენტი = 0,685) და ლიმფურ კვანძებთან (კორელაციის კოეფიციენტი = 0,747).

| | | E-Cadherin.P1 | E-Cadherin.P2 | E-Cadherin.TB | E-Cadherin.LN |
|------------|---------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| T | Pearson Correlation | -.746** | -.789** | -.672** | -.640** |
| | Sig. (2-tailed) | 0 | 0 | 0 | 0.001 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tils | Pearson Correlation | .575** | .536** | .433* | .462* |
| | Sig. (2-tailed) | 0.003 | 0.006 | 0.03 | 0.02 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tumor Buds | Pearson Correlation | -.505* | -.571** | -.443* | -.348 |
| | Sig. (2-tailed) | 0.01 | 0.003 | 0.027 | 0.088 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |

ცხრილი 2: კორელაციური კავშირები შემდეგ ჯგუფებს შორის: სიმსივნის სტადია, სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტები (TILs), სიმსივნის „ბადები,, და E-კადჰერინი;

აღნიშნება უარყოფითი კორელაციები E-კადჰერინის ექსპრესიას შორის ოთხივე ლოკაციაზე რაც მიუთითებს, რომ E-კადჰერინის ექსპრესიის დაქვეითება დაკავშირებულია TIL და TB-ს რაოდენობის გაზრდასთან.

ყველაზე ძლიერი უარყოფითი კორელაცია დაფიქსირდა E-კადჰერინის ექსპრესიას შორის მეტასტაზირებულ ლიმფური კვანძებისა და სიმსივნის ბადების ექსპრესიის რაოდენობაში ($r=-0.571$, $p=0.003$). დადებითი კორელაციები TIL და სიმსივნის „ბადების,, რაოდენობას შორის ოთხივე ლოკაციაში ვარაუდობს, რომ სიმსივნის „ბადების,, არსებობასთან შეიძლება ასოცირებული იყოს იმუნური ინფილტრაციის გაზრდა.

თუმცა, იყო გარკვეული ვარიაციები კორელაციების სარწმუნოებაში სხვადასხვა ადგილას. ყველაზე სუსტი კორელაცია დაფიქსირდა „ბადების,, რაოდენობასა და E-კადჰერინის ექსპრესიას შორის ლიმფურ კვანძებში ($r=-0.348$, $p=0.088$).

აღნიშნული მონაცემების საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ შემცირებული E-კადჰერინის ექსპრესია და გაზრდილი TIL და „ბადების,, რაოდენობა შეიძლება იყოს სასარგებლო პროგნოზული მარკერები ძუძუს კიბოსთვის.

| | | Beta-cathenin.P1 | Beta-cathenin.P2 | Beta-cathenin.TB | Beta-cathenin.LN |
|------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| T | Pearson Correlation | .816** | .842** | .751** | .744** |
| | Sig. (2-tailed) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tils | Pearson Correlation | -.722** | -.666** | -.670** | -.673** |
| | Sig. (2-tailed) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tumor Buds | Pearson Correlation | .664** | .660** | .548** | .576** |
| | Sig. (2-tailed) | 0 | 0 | 0.005 | 0.003 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |

ცხრილი 3: კორელაციური კავშირები შემდეგ ჯგუფებს შორის: სიმსივნის სტადია, სიმსივნის მაინფილტრირებელი ლიმფოციტები (TILs), სიმსივნის „ბადები,, და ბეტა-კატენინი;

პირსონის კორელაციის კოეფიციენტები მნიშვნელოვანი იყო ყველა ჯგუფს შორის შედარებისათვის ($p < 0.05$). ბეტა-კათენინის ექსპრესია პირველად სიმსივნეში მტკიცედ იყო დაკავშირებული მის ექსპრესიასთან როგორც სიმსივნის „ბადებში,, ასევე ლიმფურ კვანძებში ($r=0,816^{**}$ და $r=0,744^{**}$ შესაბამისად), ასევე TILs რაოდენობასთან ($r=-0,722^{**}$) . ანალოგიურად, ბეტა-კათენინის ექსპრესია პირველად სიმსივნის ფოკუსში 2 იყო მტკიცედ დაკავშირებული მის ექსპრესიასთან როგორც სიმსივნურ „ბადებში,, ასევე ლიმფურ კვანძებში ($r=0.842^{**}$ და $r=0.744^{**}$), ასევე TILs რაოდენობასთან ($r=-0.666^{**}$). ბეტა-კათენინის ექსპრესია სიმსივნურ „ბადებში,, ზომიერად იყო დაკავშირებული მის ექსპრესიასთან ლიმფურ კვანძებში ($r=0.576^{**}$) და სუსტად კორელირებული იყო მის ექსპრესიასთან პირველად სიმსივნის ფოკუსში 1-ში ($r=0.664^{**}$).

| | | Androgen receptor.P1 | Androgen receptor.P2 | Androgen receptor.TB | Androgen receptor.LN |
|------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| T | Pearson Correlation | 0.386 | 0.373 | .424* | .452* |
| | Sig. (2-tailed) | 0.056 | 0.067 | 0.035 | 0.023 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tils | Pearson Correlation | -0.371 | -0.39 | -0.344 | -0.395 |
| | Sig. (2-tailed) | 0.068 | 0.054 | 0.092 | 0.05 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tumor Buds | Pearson Correlation | .418* | .436* | .471* | .408* |
| | Sig. (2-tailed) | 0.037 | 0.029 | 0.018 | 0.043 |
| | N | 25 | 25 | 25 | 25 |

ცხრილი 4: კორელაციური კავშირები შემდეგ ჯგუფებს შორის: სიმსივნის სტადია, სიმსივნის მაინფილტრირებული ლიმფოციტები (TILs), სიმსივნის „ბადები,, და ანტროგენის რეცეპტორი;

კორელაცია ანდროგენული რეცეპტორის ექსპრესიასა და TILs შორის არ იყო მნიშვნელოვანი ($r=-0.371$, $p=0.068$). ანალოგიურად, კორელაცია ანდროგენული რეცეპტორების ექსპრესიასა და სიმსივნის „ბადებს,, შორის არ იყო მნიშვნელოვანი ($r=0.418$, $p=0.037$). თუმცა, კორელაცია ანდროგენული რეცეპტორის ექსპრესიასა და T-ს შორის იყო მნიშვნელოვანი ($r=0.386$, $p=0.056$). კორელაციის კოეფიციენტები ანდროგენის რეცეპტორების ექსპრესიასა და TILs შორის და ანდროგენის რეცეპტორების ექსპრესიასა და სიმსივნის „ბადებს,, შორის ორივე დადებითი იყო, მაგრამ კორელაციების სიძლიერე უფრო სუსტი იყო, ვიდრე ანდროგენის რეცეპტორების ექსპრესიასა და T-ს შორის.

ზოგადად, როგორც ჩანს, ანდროგენული რეცეპტორების ექსპრესია უფრო მჭიდროდ არის დაკავშირებული სიმსივნის სტადიასთან, ვიდრე სიმსივნის მაინფილტრირებულ ლიმფოციტებთან. თუმცა, აღსანიშნავია, რომ კორელაციები ანდროგენული რეცეპტორების ექსპრესიასა და სიმსივნურ „ბადებს,, სუსტი მაგრამ დადებითი იყო, რაც მიუთითებს გარკვეულ კავშირზე ამ ცვლადებს შორის.

დასკვნა

- არსებობს ძლიერი უარყოფითი კორელაცია სიმსივნის მიკროგარემოში E-Cadherin-ის ექსპრესიასა და TIL-ების ინფილტრაციას შორის და იმავე გარემოში ზომიერი უარყოფითი კორელაცია E-Cadherin-ის ექსპრესიასა და სიმსივნის „ბადების“ რაოდენობას შორის.
- არსებობს ძლიერი დადებითი კორელაცია ვიმენტინის ექსპრესიასა და TIL-ების ინფილტრაციას შორის და ზომიერი დადებითი კორელაცია ვიმენტინის ექსპრესიასა და სიმსივნის მიკროგარემოში სიმსივნის „ბადების“ რაოდენობას შორის.
- არსებობს ძლიერი დადებითი კორელაცია ბეტა-კატენინის ექსპრესიასა და TIL-ების ინფილტრაციას შორის და ზომიერი დადებითი კორელაცია ბეტა-კატენინის ექსპრესიასა და სიმსივნის მიკროგარემოში სიმსივნური „ბადების“ რაოდენობას შორის.
- E-კადჰერინის ექსპრესია მცირდება სიმსივნის სტადიის პროგრესირებასთან ერთად, ყველაზე დაბალი გამოხატულება დაფიქსირდა T4 სტადიაზე.
- რაც შეეხება ბეტა-კატენინის ექსპრესიას, ჩვენ ვხედავთ, რომ საშუალო გამოხატულება სიმსივნის „ბადებში“ უფრო მაღალია, ვიდრე სიმსივნის ძირითად კერაში. ეს ვარაუდობს, რომ ბეტა-კატენინმა შეიძლება შეასრულოს როლი კიბოს უჯრედების მიგრაციაში სიმსივნის ძირითადი კერიდან სიმსივნის „ბადებამდე“. საყურადღებოა, რომ ბეტა-კატენინის საშუალო ექსპრესია იზრდება სიმსივნის სტადიის პროგრესირებასთან ერთად, ყველაზე მაღალი ექსპრესია დაფიქსირდა T4 სტადიაზე.

უნდა აღინიშნოს, რომ ეს კორელაციები არ გულისხმობს მიზეზობრიობას და საჭიროა შემდგომი კვლევები ამ დაკვირვებების საფუძველად არსებული პოტენციური მექანიზმების გამოსავლენად. თუმცა, ეს დასკვნები კიდევ ერთხელ ხაზს უსვამს, რომ E-Cadherin-ის, Vimentin-ის, Beta-catenin-ის და Androgen რეცეპტორების ექსპრესია გარკვეულ როლს ასრულებს სიმსივნის მიკროგარემოს რეგულაციაში და სიმსივნის უფრო აგრესიული ფენოტიპის ჩამოყალიბებაში, ახალი თერაპიული სამიზნეების შემუშავებამ შეიძლება მნიშვნელოვნად გააუმჯობესოს HER2 პოზიტიური ძუძუს კიბოს პერსონალიზირებული მკურნალობის მეთოდები.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] B. Nami and Z. Wang, “HER2 in Breast Cancer Stemness: A Negative Feedback Loop towards Trastuzumab Resistance.,” *Cancers (Basel)*, vol. 9, no. 5, Apr. 2017, doi: 10.3390/cancers9050040.
- [2] F. Sapna, P. S. S. Athwal, M. Kumar, S. Randhawa, and S. Kahlon, “Therapeutic Strategies for Human Epidermal Receptor-2 Positive Metastatic Breast Cancer: A Literature Review.,” *Cureus*, vol. 12, no. 8, p. e9522, Aug. 2020, doi: 10.7759/cureus.9522.

- [3] M. Gámez-Chiachio, D. Sarrió, and G. Moreno-Bueno, “Novel Therapies and Strategies to Overcome Resistance to Anti-HER2-Targeted Drugs.,” *Cancers (Basel)*, vol. 14, no. 18, Sep. 2022, doi: 10.3390/cancers14184543.
- [4] K. Venetis *et al.*, “HER2 Low, Ultra-low, and Novel Complementary Biomarkers: Expanding the Spectrum of HER2 Positivity in Breast Cancer”, doi: 10.3389/fmolb.2022.834651.
- [5] B. Nami, A. Ghanaeian, C. Black, and Z. Wang, “Epigenetic Silencing of HER2 Expression during Epithelial-Mesenchymal Transition Leads to Trastuzumab Resistance in Breast Cancer,” *Life (Basel)*, vol. 11, no. 9, 2021, doi: 10.3390/LIFE11090868.
- [6] Kepuladze Shota, Kokhraidze Irakli, and Burkadze George, “View of THE CHARACTERISTICS OF EPITHELIAL MESENCHYMAL TRANSITION IN DIFFERENT MOLECULAR SUBTYPES OF PRIMARY AND METASTATIC INVASIVE DUCTAL CARCINOMA OF THE BREAST (CRITICAL REVIEW).” <https://journals.4science.ge/index.php/jecm/article/view/334/344> (accessed May 14, 2023).
- [7] S. Kepuladze, I. Kokhraidze, and G. Burkadze, “Comparative analysis of phenotypic features in the primary tumor, tumour buds and metastatic lymph nodes within Luminal A and Luminal B molecular subtypes of invasive ductal carcinoma of the breast,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 4, no. 2, pp. 117–140, Apr. 2022, doi: 10.52340/g.s.2022.04.02.09.
- [8] D. Kajaia, D. Kochiashvili, S. Kepuladze, and G. Burkadze, “Comparative analysis of features of microenvironment, stem cell and epithelial-mesenchymal transformation of non-invasive papillary bladder carcinoma with invasive carcinoma,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 4, no. 5, pp. 293–303, Dec. 2022, doi: 10.52340/g.s.2022.04.05.32.
- [9] R. Devadze, A. Gvenetadze, G. Burkadze, and S. Kepuladze, “Features of distribution of intratumoral lymphocytes in ovarian epithelial tumours of different histological types and degree of malignancy,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 4, no. 5, pp. 383–393, Dec. 2022, doi: 10.52340/g.s.2022.04.05.42.
- [10] D. Kajaia, D. Kochiashvili, S. Kepuladze, and G. Burkadze, “Comparative analysis of changes in proliferative-apoptotic and hormonal status of non-invasive papillary urothelial carcinomas with molecular subtypes of invasive carcinomas,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 4, no. 4, pp. 343–361, Sep. 2022, doi: 10.52340//g.s.2022.04.04.38.
- [11] G. Arveladze, R. Beriashvili, S. Kepuladze, and G. Burkadze, “Problematic issues in Molecular Characterization, Risk of Progression and Recurrence of Basal Cell and Squamous Cell Carcinomas of the Skin,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 4, no. 5, pp. 86–96, Oct. 2022, doi: 10.52340/g.s.2022.04.05.11.
- [12] T. Kveliashvili, G. Didava, S. Kepuladze, and G. Burkadze, “Problematic issues of the mucous membrane inflammatory changes of the gallbladder and the features of hormonal expression

in the development of dysplasia-carcinoma consequence,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 4, no. 5, pp. 108–119, Oct. 2022, doi: 10.52340/gS.2022.04.05.13.

- [13] N. Qavtaradze, E. (Dodo) Qartvelishvili, S. Kepuladze, and G. Burkadze, “Structural-molecular features of the osteochondral unit of the femur head and the synovial membrane and characteristics of progression and relapse in different types of osteoarthritis,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 4, no. 5, pp. 175–184, Nov. 2022, doi: 10.52340/gS.2022.04.05.18.
- [14] B. Metreveli, D. Gagua, G. Burkadze, and S. Kepuladze, “PROLIFERATIVE CHARACTERISTICS OF EUTOPIIC AND ECTOPIC ENDOMETRIUM IN ADENOMYOSIS USING AgNOR TECHNOLOGY,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, vol. 5, no. 1, pp. 59–71, Jan. 2023, doi: 10.52340/gS.2023.05.01.04.
- [15] D. B. Doroshov *et al.*, “PD-L1 as a biomarker of response to immune-checkpoint inhibitors,” *Nat Rev Clin Oncol*, vol. 18, no. 6, pp. 345–362, Jun. 2021, doi: 10.1038/S41571-021-00473-5.
- [16] L. Voorwerk *et al.*, “Immune induction strategies in metastatic triple-negative breast cancer to enhance the sensitivity to PD-1 blockade: the TONIC trial,” *Nat. Med.*, vol. 25, no. 6, pp. 920–928, Jun. 2019, doi: 10.1038/s41591-019-0432-4.
- [17] Q. Ma *et al.*, “A PD-L1-targeting chimeric switch receptor enhances efficacy of CAR-T cell for pleural and peritoneal metastasis,” *Signal Transduct Target Ther*, vol. 7, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1038/s41392-022-01198-2.

Comparing Changes in Epithelial-Mesenchymal Transformation Markers in Different Tumor Sites of Breast Cancer with HER2-positive Molecular Subtype

Shota Kepuladze¹; Irakli Kokhreidze²; George Burkadze³

¹Phd Student at Tbilisi State Medical University, MD, Clinical Pathologist; ²Professor at Tbilisi State Medical University, PhD, Mamologist; ³Professor at Tbilisi State Medical University, Head of the Department of Molecular pathology;

Abstract

Breast cancer is a heterogeneous disease that can be divided into different molecular subtypes, each with different clinical and pathological characteristics. HER2-positive breast cancer is a subtype characterized by overexpression of the HER2 protein, which is associated with aggressive tumor behavior. The process of epithelial-mesenchymal transformation (EMT) is believed to play a critical role in tumor invasion, metastasis, and resistance to therapy in HER2-positive breast cancer. Tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) are an important component of the host's immune response against

cancer, and their presence and composition have been shown to correlate with clinical outcome in various types of cancer, including breast cancer.

Our study aims to reveal the phenotypic heterogeneity of EMT in different tumor sites, including the primary tumor focus, tumor "Buds" and metastatic lymph nodes by molecular typing of HER2-enriched breast cancer. The expression of EMT markers, including E-cadherin, Beta-catenin and vimentin, was measured and significant differences in expression were detected. The presence of EMT in the main tumor focus and tumor "Buds" was associated with a worse clinical outcome. Furthermore, the presence and composition of TILs varied between tumor sites and correlated with the expression of EMT markers. Based on the findings, it can be assumed that EMT is a heterogeneous process and that the presence of EMT in different tumor sites may have different clinical implications for HER2-positive breast cancer. Identification of biomarkers associated with EMT and TILs may facilitate the development of targeted therapies and improve personalized treatment for patients with HER2-positive breast cancer.

Keywords: *Breast cancer, HER2-positive, Epithelial-mesenchymal transition, Tumor buds, Tumor-infiltrating lymphocytes, Cancer Biomarkers;*