

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
Departamentul II – Morfologie Microscopică**

MARGAN S.M. MĂDĂLIN-MARIUS



**IMPACTUL CLASIFICĂRII MOLECULARE
A CANCERULUI MAMAR ASUPRA
PROGNOSTICULUI ȘI TERAPIEI**

REZUMAT

Conducător științific

PROF. UNIV. DR. RAICA MARIUS

**Timișoara
2020**

CUPRINS

Lista lucrărilor publicate	VI
Lista abrevierilor.....	VII
Indexul figurilor.....	X
Indexul graficelor.....	XII
Indexul tabelelor.....	XIV
Dedicație	XVI
Mulțumiri.....	XVII
INTRODUCERE.....	XIX

PARTEA GENERALĂ

1. Glanda mamară normală	1
1.1. Embriologia glandei mamare	1
1.2. Profilul molecular al glandei mamare normale.....	3
1.2.1. Evoluția profilului molecular în glanda mamară umană normală: de la celule precursoră la celule mature	3
1.2.2. Tranziția de la dezvoltarea normală la invazie locală și fenotip metastazic.....	6
1.2.3. Markerii controversați ai țesutului mamar normal, cu potențial impact în carcinogeneza mamară.....	9
2. Profilul molecular al cancerului mamar	12
2.1. Tipuri moleculare convenționale în diagnosticul tumorilor mamare	12
2.2. Markerii moleculari cu rol prognostic în alte tipuri de tumori, dar neincluși în clasificarea moleculară a cancerului mamar.....	15
2.2.1. E-caderina	15
2.2.2. P-cadherina	17

2.2.3. PDGFR/ PDGFRb	20
2.2.4. CLIC1	23
2.2.5. SOX2.....	26

PARTEA SPECIALĂ

1. Motivație.....	29
2. Materiale și metode	33
2.1. Procesare primară.....	33
2.2. Metode de colorare	34
2.2.1. Metode morfologice.....	34
2.2.2. Metode imunohistochimice.....	35
2.3. Metode de cuantificare	38
2.3.1. Metode de cuantificare celulară	38
3. E-cadherina și P-cadherina ca potențiali markeri în clasificarea moleculară a cancerului mamar	39
3.1. Motivație.....	39
3.2. Rezultate	41
3.3. Discuții.....	50
3.4. Concluzii.....	55
4. Coexpresia E- și P-cadherinei cu factorii de creștere derivați din plachete (PDGF) A și B în formele moleculare de cancer mamar	57
4.1. Motivație.....	57
4.2. Rezultate	59
4.3. Discuții.....	69
4.4. Concluzii.....	72
5. Rolul Proteinei 1 asociată canalelor de clor (CLIC1) în interrelație cu E- cadherina și P-cadherina în formele moleculare de cancer mamar	74

5.1. Motivație.....	74
5.2. Rezultate	75
5.3. Discuții.....	93
5.4. Concluzii.....	96
6. Expresia SOX2 în formele moleculare de cancer mamar evaluată în corelație cu E-cadherina, P-cadherina și CLIC1.....	98
6.1. Motivație.....	98
6.2. Rezultate	99
6.3. Discuții.....	108
6.4. Concluzii.....	111
CONCLUZII.....	113
BIBLIOGRAFIE	116
ANEXE.....	I

INTRODUCERE

Cancerul de sân este cel mai frecvent cancer la femei, iar incidența sa a înregistrat o creștere importantă, fapt datorat și introducerii metodelor de depistare precoce sau chiar a unui screening sistematic, în special în țările dezvoltate. În cancerul mamar, analiza biomarkerilor este o practică de rutină, care nu numai că oferă informații suplimentare în plus față de factorii clinici clasici, dar permite și un tratament personalizat cu creșterea semnificativă a ratei de supraviețuire.

Diagnosticul molecular al cancerului mamar permite stratificarea pacientelor în grupe de risc cu prognostic și rate de supraviețuire diferite. Profilul molecular al tumorilor mamare poate răspunde la câteva întrebări majore: dacă biologia tumorilor diferă în cadrul aceluiași subtip în comparație cu țesutul mamar normal, dacă poate avea rol predictiv asupra evoluției clinice a pacientelor cu tumori similare din punct de vedere histopatologic, și dacă poate avea caracter predictiv pentru răspunsul la terapia adjuvantă la cazuri individuale. Inițial, au fost identificate cinci tipuri moleculare distincte de cancer mamar prin analiză genică: estrogen receptor pozitive, care includ tipurile clasice luminal A și luminal B, și estrogen receptor negative, care includ tipurile HER2, basal-like și neclasificabile sau normal-like. Recent, fiecare dintre cele cinci tipuri moleculare au fost împărțite în subgrupe caracterizate minuțios din punct de vedere al diferențelor existente în cadrul fiecărui tip molecular.

Principalele obiective ale prezentei cercetări au fost:

- (1) Studiul literaturii cu privire la evoluția profilului molecular în glanda mamară umană normală de la celule precursorare la celule mature și a tranziției de la dezvoltare normală la invazie locală și fenotip metastatic;
- (2) Identificarea de markeri controversați ai țesutului mamar normal, cu potențial impact în carcinogeneza mamară;
- (3) Selectarea unor markeri moleculari cu rol prognostic în alte tipuri de tumori, dar neincluși în clasificarea moleculară a cancerului mamar, pe criterii de oportunitate și nouitate;
- (4) Efectuarea studiului propriu-zis;
- (5) Studiarea fezabilității includerii E-cadherinei și P-cadherinei ca potențiali markeri în clasificarea moleculară a cancerului mamar;
- (6) Studiul coexpresiei E- și P-cadherinei cu factorii de creștere derivați din plachete (PDGF) A și B în formele moleculare de cancer mamar;
- (7) Studiul rolul Proteinei 1 asociată canalelor de clor (CLIC1) în interrelație cu E-cadherina și P-cadherina în formele

moleculare de cancer mamar; (8) Rolul SOX2 corelat cu cele două cadherine, precum și cu CLIC1.

Cuvinte cheie: cancer mamar, carcinogeneză, subtipuri moleculare, E-cadherina, P-cadherina, PDGFA și B, CLIC1, SOX2

II. PARTE GENERALĂ

Studii recente au arătat că țesutul mamar normal este alcătuit din celule epiteliale și celule non-epiteliale cu diferite profiluri, reflectând maturitatea și diferențierea lor. În plus, se știe că celulele țesutului mamar normal pot da naștere și la clone anormale, ce pot contribui la dezvoltarea atât a leziunilor preneoplazice, cât și a leziunilor tumorale. Se pare că celulele epiteliale din glanda mamară normală manifestă un profil heterogen, în funcție de etapa de diferențiere. Pornind de la aceste aspecte, mai multe studii au arătat existența a două fenotipuri luminale și două fenotipuri bazale, bazându-se pe profilurile imunohistochimice decelate prin expresia diferită a CD24, CD49f și a moleculei de adeziune celulară epitelială (EpCAM). Celulele precursorale luminale ale țesutului mamar normal exprimă atât CD49f, cât și EpCAM, în timp ce varianta lor matură nu exprimă CD49f. Celulele mioepiteliale, împreună cu celulele bazale precursorale nu exprimă EpCAM. Atât celulele luminale mature, cât și celulele luminale precursorale exprimă CD44 și CD24.

Pe lângă exprimarea BRCA1 și c-myc, celulele epiteliale de la nivelul glandei mamare normale exprimă și ele factorul inductibil de hipoxie (HIF) 1 și 2, care sunt asociați cu o rată de metastazare ridicată și o prognoză nefavorabilă. HIF-1 α este exprimat înaintea câștigării de către celulele epiteliale a polarității funcționale și HIF-2 α este exprimat în stadiile ulterioare ale ciclului glandei mamare. În plus, se pare că activitatea celulelor epiteliale, atât din țesutul mamar normal, cât și din cel tumoral, depinde de exprimarea receptorilor de estrogen și de progesteron și de factorii solubili, derivați din țesutul adipos. Modificările de la nivelul micromediului influențează puternic comportamentul și fenotipul celulelor epiteliale mamare. La expunerea în medii condiționate, celulele pot să treacă prin diferite modificări, care le alterează motilitatea și activitatea metaloproteazei.

Tipul "basal-like" al cancerului mamar s-a dovedit a avea o apariție crescută la pacientele cu menarhă precoce și vârstă tânără la prima sarcină,

precum și la femeile cu o durată scurtă a alăptării și la persoanele obeze. În ciuda răspunsului relativ bun la chimioterapie, tipul "basal-like" are un prognostic prost, datorat recăderilor frecvente asociate cu metastaze viscerale multiple. Rezultatele obținute prin analiza genică se suprapun cu cele obținute prin imunohistochimie, bazat pe expresia receptorilor hormoni (ER și PR), HER2, EGFR, citokeratine monoclonale, p53 și Bcl-2. Subtipul molecular „claudin-low”, recent identificat, a fost asociat în mică măsură cu tipul histopatologic convențional de carcinom lobular (majoritatea acestora neavând, de fapt, arhitectură lobulară), și reprezintă o entitate distinctă a tipului „triplu negativ” prin expresia scăzută a claudinelor, dar și prin aspectul slab diferențiat, grad tumoral ridicat și, cel mai adesea, un bogat infiltrat inflamator. Statusul E-cadherină negativ/Ki67 pozitiv în cazul tumorilor triplu negative este considerat un factor de prognostic nefavorabil. Terapia adjuvantă s-a dovedit a fi eficientă în cazul pacienților cu tumori triplu negative stadiul II. Expresia receptorilor pentru hormonii androgeni în tumorile triplu negative, împreună cu diferențele de expresie ale Bcl-2 observate în tumorile triplu negative vs cele non triplu negative sunt două aspecte intens studiate ca factori de prognostic și terapeutici în tumorile mamare.

Markerii de prognostic pentru identificarea cazurilor cu un potențial crescut de progresie și metastazare sunt extrem de limitați și nespecifici în tumorile maligne în care sunt incluse și tumorile mamare. Nu există în acest moment un marker specific pentru progresia și metastazarea tumorală, specific tumorilor cu origini diferite și, din acest motiv, stratificarea tumorilor maligne mamare în cadrul aceleiași clase moleculare este stringentă. Studiile din literatură descriu o serie de markeri versatili care își pierd sau își modifică expresia dependent de statusul tumoral, în acest moment rolul lor în progresia și metastazarea tumorală fiind foarte puțin elucidat. Dintre aceștia, markerii pe care i-am ales specific pentru studiu sunt extrem de controversați. Mai mult, combinarea E-cadherinei, P-cadherinei și a CLIC1 pentru stratificarea tumorilor mamare maligne din cadrul aceleiași clase moleculare nu este cunoscută și până în prezent nu s-au publicat date asupra acestui subiect.

E-cadherina este o moleculă de adeziune reglată de calciu, exprimată în cele mai multe țesuturi epiteliale. Gena pentru E-cadherina este localizată pe cromozomul 16q22. Pierderea selectivă a E-cadherinei poate determina diferențierea și caracterul invaziv în carcinoamele umane. În diferite linii celulare, a fost demonstrată o relație de reciprocitate între nivelurile expresiei E-cadherinei și

gradului de invazivitate. Reducerea expresiei E-cadherinei a fost observată în tumorile agresive ale esofagului, ovarului și stomacului.

P-cadherina, cunoscută și sub denumirea de cadherină placentară, a fost găsită inițial în țesutul placentar al șoarecilor, iar gena sa de codificare, CDH3, este localizată pe cromozomul 16 16q22.1. În cancerul de sân, s-a descoperit că supraexpresia P-cadherinei promovează motilitatea celulară, migrația celulară, precum și capacitatea de invazie. Un fenotip agresiv similar a fost observat și în liniile de celule canceroase ale vezicii urinare și ale pancreasului.

Calea receptorului factorului de creștere derivat din plachete (PDGFR) este o rețea de semnalizare de importanță pentru dezvoltarea normală a celulelor de origine mezenchimală. Rețeaua de semnalizare PDGF constă în doi receptori ai tirozin kinazei, PDGFR alfa (PDGFRA) și PDGFR beta (PDGFRB) și cinci liganzi PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC și PDGF-DD din patru produse genetice (PDGFA, B, C și D). Stimularea autocrină a căii este frecvent observată în diferite neoplasme, cum ar fi gliomele, tumorile stromale gastro-intestinale (GIST) și leucemia mielomonocitară cronică. În plus, dereglarea semnalizării PDGFR paracrine poate provoca remodelarea matricei extracelulare într-un mod de promovare a tumorii pentru a facilita migrația, invazia, angiogeneza și eventual, limfangiogeneza.

CLIC1 (canal intracelular de clor 1) este o proteină aparținând familiei canalelor ionice ale clorului. Această proteină este exprimată în mod natural în corpul uman și este implicată în multe procese celulare (reglarea volumului celular, reglarea potențialului membranal, reglarea ciclului celular, proliferarea și diferențierea celulară). O implicare potențială a CLIC1 în dezvoltarea tumorii este suspectată atât pentru implicarea sa în ciclul celular, cât și pentru expresia funcțională a acesteia în timpul stresului oxidativ.

SRY (regiunea de determinare a sexului Y)-box 2, cunoscută și sub denumirea de SOX2, este un factor de transcriere necesar pentru pluripotență în timpul embriogenezei timpurii și pentru menținerea identității celulelor stem embrionare. Studiile de expresie sugerează un rol pivot pentru gena SOX2 în sistemul nervos central în curs de dezvoltare, în special în hipofiza, antebraț și ochi. Până acum au fost publicate date dispersate cu privire la implicarea genei SOX2 în dezvoltarea normală a altor organe, cum ar fi pancreasul, ficatul sau tractul gastrointestinal. Recent, a fost evidențiat rolul potențial al SOX2 în carcinogeneza umană în carcinomul cu celule scuamoase ale tractului gastrointestinal și în fenotipul bazal, similar cancerului de sân.

III. PARTEA SPECIALĂ

Partea specială cuprinde 6 capitole: 2 introductive (motivația, materiale și metode), și 4 studii imunohistochimice cu scopuri distincte: studiul E-cadherinei și P-cadherinei ca potențiali markeri în clasificarea moleculară a cancerului mamar; studiul despre coexpresia E- și P-cadherinei cu factorii de creștere derivați din plachete (PDGF) A și B în formele moleculare de cancer mamar; studiul cu privire la rolul Proteinei 1 asociată canalelor de clor (CLIC1) în interrelație cu E-cadherina și P-cadherina în formele moleculare de cancer mamar; studiul cu privire la expresia SOX2 în formele moleculare de cancer mamar evaluată în corelație cu E-cadherina, P-cadherina și CLIC1.

În cadrul cercetării au fost incluse 97 cazuri, acestea fiind reprezentate de fragmente biopsice prelevate în perioada 2016-2018 de la pacienți internate în cadrul Spitalului Clinic Republican Chișinău și Spitalului Clinic Municipal de Urgență Arad. Cazurile selectate pentru tehnica imunohistochimică au fost colorate prin metode imunohistochimice simple și duble imunocolorări. Profilul molecular și evaluarea imunohistochimică au fost realizate folosind anticorpilor: ER, PR, Her2, Ki67, E-cadherina, P-cadherina, PDGFA, PDGFB, PDGFR beta, SOX2, CLIC, CD34. Automatul utilizat în vederea tehnicii imunohistochimice a fost Leica Bond-Max (Leica Biosystems, Newcastle upon Tyne, UK). Soluțiile utilizate pentru demascare au fost Bond Epitope Retrieval Solution 1 și 2, soluții cu pH 6 și 9 (Leica Biosystems, Newcastle Ltd, Newcastle Upon Tyne NE 12 8EW, UK). Pentru blocarea peroxidazei endogene s-a folosit timp de 5 minute, apă oxigenată 3%. Următorul pas a fost incubarea cu anticorpilor primari, 30 de minute. Anticorpilor secundari și terțiari au fost aplicați timp de 8 minute fiecare. Vizualizarea a fost realizată cu ajutorul sistemului Bond Polymer Refine Detection System. Incubarea cu cromogenul 3,3 diamino-benzidină a fost de 10 minute. Contracolorarea s-a realizat cu hematoxilina, aplicată timp de 5 minute. Dubla imunocolorare utilizată a fost SOX 2/CLIC1.

Din punct de vedere imunohistochimic, au fost incluse cazurile care au prezentat în structurile normale expresie citoplasmatică (CD34, PDGFA, PDGFB, CLIC 1), nucleară (Ki67, ER, PR, SOX 2) și membranară (Her2, E-cadherina, P-cadherina, PDGFR beta). Analiza și prelucrarea imaginilor a fost făcută cu ajutorul microscopului Axiocam 506 color, Zeiss, Jena, Germania.

Prezenta cercetare și-a propus să aprofundeze E-cadherina și P-cadherina ca potențiali markeri în clasificarea moleculară a cancerului mamar, dar și

coexpresia E- și P-cadherinei cu factorii de creștere derivați din plachete (PDGF) A și B. De asemenea, am dorit studierea rolului Proteinei 1 asociată canalelor de clor (CLIC1) în interrelație cu E-cadherina și P-cadherina în formele moleculare de cancer mamar, dar și importanța markerilor nou apăruiți, ca de exemplu SOX2, ca potențiale ținte terapeutice pentru tratamentul cancerului de sân.

În condiții tumorale, E- și P-cadherinele sunt intens studiate în procesele de invazie și metastazare, ele totodată fiind responsabile de tranziția epiteliomezenchimală, ce susține agresivitatea tumorală. Utilizarea acestor markeri sugerează revizuirea formelor moleculare de cancer mamar cu introducerea unor noi factori care să explice mai bine heterogenitatea moleculară, răspunsul diferit la terapie și prognosticul imprevizibil pe termen lung al unor cazuri care inițial au fost încadrate în același subgrup molecular. Rezultatele noastre relevă expresia și coexpresia diferențiată a celor două tipuri de cadherine în formele moleculare de cancer mamar.

Interrelația E- și P-cadherinei cu factorii de creștere este relativ puțin studiată, astfel că interacțiunea E- și P-cadherinei cu PDGFA și B în cancerul mamar este raportată doar la formele clasice și într-o foarte mică măsură la formele moleculare de cancer mamar. Rezultatele noastre relevă interacțiunea E- și P-cadherinelor cu expresia diferențiată a PDGFA și PDGFB în formele moleculare de cancer mamar.

Am considerat utilă asocierea expresie P-cadherinei cu CLIC1 pentru a defini o clasă de tumori în care un procent conțin celule cu rol stem în formele moleculare de cancer mamar. Cvadrupla asociere dintre E-cadherin, P-cadherin și CLIC1 în vase și celulele tumorale a definit 16 fenotipuri care au fost analizate pentru formele moleculare de cancer mamar incluse în studiu pentru a se observa existența unor fenotipuri particulare, specifice fiecărui tip molecular. Tripla asociere a E-cadherinei citoplasmatică cu expresia CLIC1 în celulele tumorale și vasele tumorale a definit, ca și în cazurile anterioare, 8 fenotipuri pentru fiecare formă moleculară de cancer mamar.

Cercetarea prezentă a identificat în cadrul grupelor moleculare de cancer mamar subclase distincte stratificate pe baza markerilor certificați cu rol în progresie, metastazare și dezvoltare de rezistență la terapie. Aceste subclase reprezintă direcții clare pentru noi studii mai ample care vor putea duce la schimbarea paradigmei actuale în diagnosticul molecular al cancerului mamar.

CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PROPRII

1. Studiul E- și P-cadherinei în formele moleculare de cancer mamar a relevat diferențe semnificative între expresiile acestora în diferite clase moleculare.
2. Heterogenitatea de expresie a E-și P-cadherinei a fost remarcată în cadrul aceleiași tumori, aspect care sugerează existența unor zone tumorale instabile, cu risc de a disemina celule tumorale cu un fenotip particular și potențial crescut de invazie și metastazare. În cazul P-cadherinei, zonele pozitive ar trebui identificate, fiind potențiale surse de celule cu rol stem și mecanism adaptativ la terapia convențională și țintită.
3. Expresiile E- și P-cadherinei s-au corelat cu gradul tumoral pentru tipul Luminal A, aspect care nu a fost întâlnit la cazurile de tip mixt. În tipul HER2, expresia citoplasmatică a E-cadherinei s-a corelat semnificativ statistic cu cea a P-cadherinei. Tipul TNBC a fost caracterizat de expresia P-cadherinei, precum și de corelația semnificativ statistică dintre expresia acesteia și G. Cazurile de tip Luminal B au prezentat cea mai mare variabilitate de expresie a celor două cadherine.
4. Analiza expresiei PDGF și a cadherinelor în cancerul mamar fără stratificarea acestora în formele moleculare binecunoscute a demonstrat doar o singură corelație între PDGFB și expresia membranară și citoplasmatică a E-cadherinei, P-cadherina având corelații care nu erau semnificativ statistice cu nici unul din factorii studiați.
5. Analiza defalcată în formele moleculare de cancer mamar și corelat cu expresia diferențiată, membranară, citoplasmatică sau mixtă a E- și P-cadherinelor, membrii familiei PDGF au relevat diferențe semnificative între diferitele clase moleculare.
6. Tipurile HER2 și TNBC au prezentat o corelație semnificativ statistică între expresiile PDGFA și B în compartimentele stromal, tumoral și vascular și expresia diferențiată a E-cadherinei și P-cadherinei.
7. Pentru tipul Luminal A, PDGFA și B din celulele tumorale s-a corelat cu expresia E-cadherinei, în timp ce PDGFB stromal s-a corelat semnificativ statistic cu P-cadherina.

8. Cazurile de tip mixt au fost caracterizate de coexpresia semnificativă a PDGFA vascular cu E-cadherina citoplasmatică.
9. Tipul HER2 a fost guvernat de coexpresia P-cadherinei cu PDGFA și B stromal, precum și cu PDGFA exprimat la nivel vascular.
10. Pentru cancerelor triplu negative, PDGFB și P-cadherin au caracterizat un subgrup de risc.
11. Indiferent de combinația utilizată între E-cadherină, P-cadherină și CLIC1 (T și V), am definit un impact major al combinațiilor acestora asupra claselor moleculare de tip Luminal B, HER2+ și TNBC.
12. Evaluarea globală a coexpresiei E-cadherinei/CLIC1T a demonstrat că în TNBC am avut un procent de 100% cazuri Ecadh+/CLIC1T+. Cuantificarea diferențiată a coexpresiei E-cadherinei citoplasmatică cu CLIC1T a stratificat cazurile de tip TNBC în două subgrupuri în care CLIC1T a fost pozitiv, dar E-cadherina a variat. Dintre cele două grupuri, considerăm că subgrupul cu expresia citoplasmatică a E-cadherinei și CLIC1 pozitiv în celulele tumorale (Ecadh.C+/CLIC1T+) reprezintă un subgrup de risc pentru TNBC cu un potențial de metastazare ridicat și posibil cu o rezistență crescută la terapie.
13. Asocierea expresiei CLIC1V (în vasele tumorale) la fenotipul Ecadh+/CLIC1T+ a definit fenotipul Ecadh+/CLIC1T+/CLIC1V+. În acest subtip, 89.90% din cazuri au prezentat expresie citoplasmatică a E-cadherinei, astfel că EcadC+/CLIC1T+/CLIC1V+ poate fi considerat un subgrup de risc.
14. Evaluarea Pcad/CLIC1T a demonstrat un procent similar cu cel al asocierii Ecad/CLIC1T pentru fenotipul în care ambii markeri sunt pozitivi în formele moleculare de tip HER2+ și TNBC. În cazul P-cadherinei, de interes a fost subgrupul Pcad+/CLIC1T+. Cel mai mic procent al acestui fenotip s-a înregistrat în tipul Luminal A, iar tipul TNBC a prezentat cel mai mare procent de astfel de cazuri. În schimb fenotipul Pcad-/CLIC1T+ a fost prezent în peste 55% din cazurile de tip Luminal A, pe când în tipurile TNBC și HER2 acest fenotip a fost absent.

15. Asocierea Ecad/Pcad/CLIC1T a definit un fenotip specific doar tipului Luminal A: Ecad-/Pcad+/CLIC1T+ într-un procent redus de cazuri (7.69%). Acest grup poate fi considerat un grup cu risc crescut în cadrul carcinoamelor mamare de tip Luminal A.
16. Fenotipul Ecad/Pcad/CLIC1T/CLIC1V a certificat utilitatea acestui panel în stratificarea tumorilor mamare în cadrul aceluiași grup molecular.
17. E-cadherina, P-cadherina, SOX2 și CLIC1 stratifică fiecare grup molecular de cancer mamar în subclase de risc dependente de prezența sau absența unuia dintre acești markeri.
18. SOX2 este frecvent întâlnit în formele moleculare agresive de tip HER2 și TNBC, includerea lui în evaluarea moleculară a cancerului mamar fiind obligatorie, cu rol predictiv asupra răspunsului la terapie.
19. Realizarea unor fenotipuri particulare pe baza combinației cadherinelor cu SOX2 și CLIC1 va determina o abordare terapeutică diferențiată chiar și în cadrul aceluiași grup molecular.
20. Fenotipul E-cadC+/P-Cadh+/SOX2+ este observat predominant în cazurile de tip HER2 și TNBC și caracterizează subgrupuri de tumori cu o tranziție epitelio-mezenchimală intensă, dublată de existența celulelor cu potențial stem.
21. În grupul SOX2+/CLIC1+, coexpresia P-cadherinei este de asemenea specifică tipurilor HER2 și TNBC, acest fenotip fiind absent în cazurile de tip Luminal A și Luminal B.

LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE

1. **Madalin Marius Margan**, Anca Maria Cimpean, Amalia Raluca Ceausu, Marius Raica. *Differential expression of e-cadherin and p-cadherin in breast cancer molecular subtypes*. Anticancer Research. October 2020 vol. 40 no.10 5557-5566. (IF=1.994 -2019)
2. **Madalin Marius Margan**, Andreea Adriana Jitariu, Anca Maria Cimpean, Cristian Nica, Marius Raica. *Molecular portrait of the normal human breast tissue and its influence on breast carcinogenesis*. Journal of Breast Cancer. 2016 Jun;19(2):99-111. (IF=2.204 -2016)
3. Veaceslav Fulga, Lucian Rudico, Amalia Raluca Balica, Anca Maria Cimpean, Lilian Saptefrati, **Madalin-Marius Margan**, Marius Raica. *Differential expression of e-cadherin in primary breast cancer and corresponding lymph node metastases*. Anticancer Research. February 2015 vol. 35 no. 2 759-765. (IF=1.895 -2015)
4. **Margan Mădălin-Marius**. *Molecular markers in breast cancer and their clinical significance*. Fiziologia (Physiology), 2015, VOL. 25, No.3 (87), p. 29 – 35. (BDI)