

# Ekspresja genów kodujących E-kadherynę i $\beta$ 1-integrynę w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy

Expression of E-cadherin and  $\beta$ 1-integrin mRNA in endometrial cancer

Katarzyna Wójcik-Krowiranda<sup>1</sup>, Ewa Forma<sup>2</sup>, Agnieszka Zaczek<sup>2</sup>,  
Magdalena Bryś<sup>2</sup>, Magdalena Krześlak Anna<sup>2</sup>, Andrzej Bieńkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Gynecological Oncology, Medical University of Łódź, Poland

<sup>2</sup> Department of Cytobiochemistry, University of Łódź, Poland

## Streszczenie

**Cel pracy:** Powstawanie przerzutów jest nieodłączną cechą nowotworów złośliwych, a także przyczyną wielu niepowodzeń terapeutycznych. Proces ten jest sekwencją następujących po sobie zjawisk takich jak, proteolityczna degradacja błon plazmatycznych, migracja komórek, proliferacja i neowaskularyzacja. Do grup białek bezpośrednio zaangażowanych w wymienione powyżej procesy należą między innymi, kadheryny oraz integryny. Celem przeprowadzonych badań była ocena ekspresji genów kodujących E-kadherynę (CDH1) i  $\beta$ 1-integrynę (ITGB1) w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy oraz korelacja uzyskanych wyników z danymi kliniczno-patologicznymi.

**Materiał i metody:** Materiał użyty do badań stanowiło 106 preparatów raka błony śluzowej trzonu macicy. W preparatach tych oznaczono ekspresję CDH1 i ITGB1 na poziomie mRNA metodą real-time PCR. Wyniki badań zostały poddane analizie statystycznej.

**Wyniki:** Ekspresję genów CDH1 oraz ITGB1 stwierdzono we wszystkich badanych preparatach i była ona znamienne statystycznie skorelowana ze stopniem złośliwości nowotworu. W nowotworach o wysokim stopniu zróżnicowania komórkowego (G1) była najwyższa, natomiast wartość jej obniżała się wraz ze wzrostem stopnia złośliwości nowotworu, w przypadku obu analizowanych genów. Stwierdzono także występowanie istotnej statystycznie korelacji między ekspresją CDH1 i ITGB1 (test rang Spearmana,  $r=0,29$ ,  $p<0,01$ ).

**Wniosek:** Określanie ekspresji genów CDH1 i ITGB1 może być rozważane jako użyteczny molekularny marker stopnia złośliwości oraz wskaźnik ryzyka powstawania przerzutów w odniesieniu do nowotworów błony śluzowej trzonu macicy.

Słowa kluczowe: **marker molekularny / E-kadheryna /  $\beta$ 1-integryna / CDH1 / ITGB1 / rak błony śluzowej trzonu macicy / ekspresja genów /**

## Corresponding author:

Katarzyna Wójcik-Krowiranda  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
90-419 Łódź, Al. Kościuszki 4  
tel. 42 689 55 12; fax 42 689 5952  
e-mail: katarzyna.wojcik-krowiranda@umed.lodz.pl

Otrzymano: 20.05.2013  
Zaakceptowano do druku: 30.09.2013

Katarzyna Wójcik-Krowiranda, et al. Ekspresja genów kodujących E-kadherynę i  $\beta$ 1-integrynę w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy.

## Abstract

**Objectives:** The metastatic ability of tumors is characteristic for malignant neoplasms and constitutes the main cause of therapeutic failures. Metastasis formation involves the sequence of processes such as proteolytic degradation of the basement membrane, migration, intravasation, extravasation, proliferation and angiogenesis. Cadherins and integrins are groups of proteins directly involved in these processes.

In the present study we analyzed the mRNA expression of *CDH1* and *ITGB1* genes by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). The study included 106 endometrial carcinomas. *CDH1* and *ITGB1* mRNA expression was found in all of the studied samples. Generally, the *CDH1* and *ITGB1* mRNA expression was significantly higher in well-differentiated rather than poorly differentiated tumors.

**Materials and methods:** The mRNA expression levels of *CDH1* and *ITGB1* in series of 83 samples of endometrial carcinoma were studied by real time RT-PCR method. Statistical analysis of the obtained results was performed.

**Results:** *CDH1* and *ITGB1* gene expression was observed in all examined tissues and was correlated with cancer malignancy (G). In high grade malignant tumors (G1), *CDH1* and *ITGB1* gene expression was the highest, in G2 and G3 tumors the expression of both genes was gradually lowering. Moreover, the statistically significant correlation between *CDH1* and *ITGB1* gene expression was observed. (Spearman test,  $r=0.29$ ,  $p<0.01$ ).

**Conclusion:** *CDH1* and *ITGB1* mRNA expression seems to be an important marker of cancer progression and metastases in endometrial malignant tumors.

Key words: **molecular marker / E-cadherin /  $\beta$ 1-integrin / CDH1 / ITGB1 / endometrial carcinoma / gene expression /**

## Wstęp

Adhezja odgrywa bardzo istotną funkcję w regulacji takich procesów komórkowych jak wzrost, różnicowanie i migracja komórki. Białka odpowiedzialne za adhezję określa się akronimem CAMs (ang. *cellular adhesion molecules*) i pośredniczą one w oddziaływaniach między komórkami oraz między komórkami a macierzą międzykomórkową [1]. W procesie transformacji nowotworowej następuje stopniowa utrata kontaktu między komórkami i w efekcie dochodzi do ich rozsiewu poza obręb pierwotnego ogniska nowotworowego. Zjawisko powstawania przerzutów, czyli przemieszczanie się komórek nowotworowych z obszaru guza pierwotnego do węzłów chłonnych oraz do odległych tkanek i narządów, jest nieodłączną cechą nowotworów złośliwych, a także przyczyną wielu niepowodzeń w terapii przeciwnowotworowej [2].

Powstawanie przerzutów jest sekwencją następujących po sobie procesów takich, jak proteolityczna degradacja błon podstawnych, migracja komórek, intrawazacja, proliferacja i neowaskularyzacja. Do grup białek bezpośrednio zaangażowanych w te procesy należą, między innymi, kadheryny oraz integryny [3]. Kadheryny są powierzchniowymi czynnikami adhezyjnymi, zależnymi od kationów wapnia, odpowiadającymi za utrzymanie architektury tkanek nabłonkowych oraz kontrolowanie polaryzacji, proliferacji i różnicowania komórek. Jednym z głównych białek rodziny kadheryn, którego ekspresja zmienia się w trakcie procesu transformacji nowotworowej jest E-kadheryna. Białko to określa się jako supresor wzrostu, gdyż działa ono na zasadzie inhibicji kontaktowej, indukując zatrzymanie cyklu komórkowego, poprzez dodatnią regulację białka p27, które z kolei pełni funkcję inhibitora kinaz zależnych od cyklin CDK (ang. *cyclin-dependent kinase*) [4, 5].

Kodujący E-kadherynę gen *CDH1* zlokalizowany jest na 16 chromosomie i składa się z 16 eksonów, obejmujących ok. 100 kb genomowego DNA [6]. Sugeruje się, że zmiany ekspresji i/lub funkcji E-kadheryny mogą być związane z redukcją przylegania komórek potomnych do nowotworowej komórki rodzicielskiej, co wiąże się z ich zwiększoną zdolnością do lokalnej inwazji [7].

Kolejną grupę białek zaangażowanych w powstawanie przerzutów stanowią integryny. Podobnie jak kadheryny, są one cząsteczkami adhezyjnymi pełniącymi funkcję receptorów dla elementów macierzy pozakomórkowej i wiążą się z takimi białkami jak kolagen, fibronektyna czy witronektyna. Poza funkcją adhezyjną, integryny pełnią funkcję przekaźników sygnałów komórkowych. Integryny występują jako heterodimery składające się z dwóch niekowalencyjnie związanych podjednostek, a i b. Dotąd poznano 16 podjednostek a i 8 podjednostek b, które tworzą 24 różne heterodimery [8]. Do najlepiej poznanych należą integryny b1, b2 i b3. Integryny b1 noszące także wspólną nazwę VLA (ang. *very late antigen*) lub CD29, zawierają wspólny łańcuch b1 tworzący heterodimer z podjednostkami a (CD48). Białka te biorą udział w wiązaniu komórek z macierzą zewnątrzkomórkową i występują w większości komórek układu immunologicznego [9].

W badaniach prowadzonych na modelach zwierzęcych wykazano, że obniżona ekspresja białka E-kadheryny, jak i b1-integryny związana jest z progresją oraz powstawaniem przerzutów [10]. Obserwacje te potwierdzono w badaniach na materiale archiwalnym pobranym od pacjentek z rakiem błony śluzowej trzonu macicy [11]. Brak jest jednak doniesień literaturowych, które analizowałyby ekspresję genów kodujących oba białka w materiale nowotworowym błony śluzowej trzonu macicy i odnosiły te dane do cech kliniczno-patologicznych.

Katarzyna Wójcik-Krowiranda, et al. Ekspresja genów kodujących E-kadherynę i  $\beta$ 1-integrynę w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy.

## Cel pracy

Celem podjętych przez nas badań była analiza ekspresji E-kadheryny oraz  $\beta$ 1-integryny na poziomie mRNA, w preparatach raka błony śluzowej trzonu macicy oraz korelacja uzyskanych wyników z danymi kliniczno-patologicznymi.

## Materiał i metody

Materiał użyty do badań stanowiły wycinki ze zmienionej nowotworowo błony śluzowej trzonu macicy. Pacjentki były leczone operacyjnie w Oddziale Klinicznym Ginekologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Badaniami objęto 106 pacjentek, u których zdiagnozowano przed przyjęciem do oddziału nowotwór endometrium. Charakterystyka demograficzna pacjentek i kliniczno-patologiczna badanego materiału została zawarta w tabeli I.

Nowotwory błony śluzowej trzonu macicy scharakteryzowane zostały wg klasyfikacji FIGO pod względem zaawansowania klinicznego oraz wg kryteriów WHO odnośnie stopnia złośliwości histologicznej [12].

### Izolowanie RNA i synteza cDNA

Całkowite RNA izolowano przy użyciu odczynnika TRI Reagent (Sigma-Aldrich Corp, St. Louis, MO, USA) zgodnie z zaleceniami producenta. Czystość otrzymanych preparatów RNA określano metodą spektrofotometryczną poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 260 nm i 280 nm. Przyjętym kryterium czystości DNA była wartość  $A_{260}/A_{280}$  mieszcząca się w granicach 1,8–2,0. Reakcję odwrotnej transkrypcji przeprowadzano przy użyciu zestawu PCR Kit ver. 3.0 (Takara Bio Inc. Japonia) zgodnie z zaleceniami producenta. cDNA przechowywano w temp.  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### Analiza ilościowa produktu amplifikacji w czasie rzeczywistym – reakcja real-time PCR

Otrzymany RNA stanowił matrycę w reakcji real-time PCR dla oznaczenia liczby kopii mRNA dla genów *CDH1* i *ITGB1*. Użyta mieszanina reakcyjna zawierała: 0,5  $\mu\text{l}$  cDNA, 5  $\mu\text{l}$  TaqMan® Universal PCR MasterMix, 0,5  $\mu\text{l}$  20x TaqMan® Gene Expression Assays i 4 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Reakcję real-time PCR prowadzono w urządzeniu Mastercycler®ep realplex (Eppendorf). Początkowa ilość matrycy wyznaczana była na podstawie parametru Ct (teoretyczny numer cyklu, przy którym wartość fluorescencji jest wyższa niż przyjęta arbitralnie wartość graniczna). Pomiar wartości Ct wykonano w dwóch powtórzeniach, jako gen referencyjny wykorzystano HPRT1 (fosfatydylotransferaza hipoksantynoguaninowa; ang. *hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1*). Do badań zastosowano następujące sondy TaqMan® Gene Expression Assays (Applied Biosystems, USA): *CDH1* - Hs01023894\_m1, *ITGB1* - Hs00559595\_m1, *HPRT1* - Hs02800695\_m1.

Analizy statystycznej wyników dokonano przy użyciu programu komputerowego STATISTICA wersja 9.0 (StatSoft, Poland).

Wszystkie wyniki badań sprawdzono testem Shapiro-Wilka pod względem zgodności z rozkładem normalnym. Część wyników badań nie była zgodna z rozkładem normalnym, stąd też dalsze analizy statystyczne wykonano metodami nieparametrycznymi (test U Manna-Whitneya, test korelacji rang Spearmana). Analizy ilorazu szans (*odds ratio* – OR) oraz 95-procentowego przedziału ufności (95 percent confidence interval – 95% CI), dokonano przy użyciu modelu regresji logistycznej. Za statystycznie istotną przyjęto wartość  $p < 0,05$ .

**Tabela I.** Charakterystyka demograficzna pacjentek i kliniczno-patologiczna nowotworów błony śluzowej trzonu macicy.

Charakterystyka	Ilość pacjentek n=106
Średni wiek $\pm$ SD (zakres)	62,84 $\pm$ 10,73 (31 – 83)
klasyfikacja FIGO	
I	70
II	15
III	18
IV	3
złośliwość histologiczna	
G1	21
G2	75
G3	10
grubość nacieku	
<1/2	60
>1/2	46
przerzuty do węzłów chłonnych	
Nie	98
Tak	8

## Wyniki

Ekspresja genów *CDH1* i *ITGB1*, na poziomie mRNA, stwierdzona została we wszystkich 106 preparatach raka błony śluzowej trzonu macicy. Zestawienie poziomów ekspresji badanych genów w odniesieniu do danych kliniczno-patologicznych zawarte zostało w tabelach II i III. Nie zaobserwowano zależności między ekspresją badanych genów a wiekiem pacjentek (test rang Spearmana, dla *CDH1*  $r=0,04$ ;  $p>0,05$ , dla *ITGB1*  $r=-0,14$ ,  $p>0,05$ ).

Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że średnia ekspresja genu *CDH1* w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy zmienia się wraz z progresją nowotworu. W odniesieniu do stopnia zaawansowania wg FIGO (test Kruskala-Wallis,  $p<0,01$ ), nowotwory o najniższym stopniu zaawansowania (FIGO I) charakteryzują się najwyższą ekspresją *CDH1* i jest ona znamienne statystycznie wyższa w porównaniu do stopnia FIGO II, III i IV (odpowiednio, test Manna-Whitneya,  $p<0,05$ ;  $p<0,05$ ;  $p<0,01$ ). Również ekspresja *CDH1* w nowotworach w stopniu FIGO II i III była znamienne statystycznie wyższa w porównaniu ze stopniem FIGO IV (test Manna-Whitneya,  $p<0,01$ ). Podobnie w przypadku stopnia zróżnicowania (G), nowotwory dojrzałe histologicznie (G1) charakteryzowały się znamienne statystycznie wyższą ekspresją *CDH1*, w porównaniu ze stopniami G2 i G3 (odpowiednio, test Manna-Whitneya,  $p<0,05$  i  $p<0,01$ ). Analogiczne zależności zaobserwowano w relacjach między ekspresją *CDH1* a stopniem naciekania mięśniówki oraz obecnością przerzutów w węzłach chłonnych. (Tabela II).

Katarzyna Wójcik-Krowiranda, et al. Ekspresja genów kodujących E-kadherynę i  $\beta 1$ -integrynę w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy.**Tabela II.** Ekspresja genu *CDH1* wyrażona jako ilość kopii badanego genu w przeliczeniu na 1000 kopii genu *HPRT1*, w odniesieniu do parametrów kliniczno-patologicznych.

	<b>CDH1 (ilość kopii mRNA dla CDH1/ 1000 kopii HPRT1)</b>	<b>p</b>
FIGO		$p^a < 0,01$
I	1233,73±335,63	
II	870,69±394,00	
III	707,98±273,43	
IV	307,67±411,76	
Grade (G)		$p^a < 0,01$
1	1163,56±378,28	
2	834,11±395,23	
3	516,43±283,56	
naciekanie mięśniówki		$p^b < 0,05$
<1/2	968,21±338,47	
>1/2	597,32±328,44	
przerzuty do węzłów chłonnych		$p^b < 0,05$
brak	1016,37±398,91	
obecne	573,68±312,83	

$p^a$  – test Kruskala-Wallis  
 $p^b$  – test Manna-Whitneya

W przypadku genu *ITGB1* również zaobserwowano znamienne statystycznie różnice w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego i zróżnicowania histologicznego. (Tabela III).

W nowotworach o stopniu zaawansowania określonym jako FIGO I ekspresja *ITGB1* była wyższa niż w stadium FIGO IV (test Manna-Whitneya,  $p < 0,05$ ) oraz w nowotworach o stopniu zróżnicowania G1 wyższa niż w stopniu G3 (test Manna-Whitneya,  $p < 0,05$ ).

Zaobserwowano także znamienne statystycznie pozytywną korelację między ekspresją genu *CDH1* i *ITGB1* (test rang Spearmana,  $r = 0,29$ ,  $p < 0,01$ ) w badanych nowotworach błony śluzowej trzonu macicy.

Wyliczono także iloraz szans określający ryzyko naciekania mięśniówki oraz występowania przerzutów wraz ze wzrostem stopnia złośliwości raka błony śluzowej trzonu macicy. (Tabela IV).

W nowotworach o stopniu zróżnicowania charakteryzowanym jako G2 i G3, ryzyko ponad 50% naciekania mięśniówki jest 4-krotnie większe niż w przypadku nowotworów o stopniu zróżnicowania G1 (OR [95% CI - 4,85 [1.32-17.71],  $p = 0,02$ ).

## Dyskusja

Ekspresja genów kodujących E-kadherynę (*CDH1*) oraz  $\beta 1$ -integrynę (*ITGB1*) analizowana była w 106 preparatach raka błony śluzowej trzonu macicy.

Średni wiek pacjentek, od których pozyskano materiał, wynosił  $62,84 \pm 10,73$  i wahał się w przedziale 31–83 lat. Liczba losowo wybranych pacjentek, które uczestniczyły w badaniach i przekroczyły 50 rok życia wynosiła 100 (94,3%), co stanowiło

**Tabela III.** Ekspresja genu *ITGB1* wyrażona jako ilość kopii badanego genu w przeliczeniu na 1000 kopii genu *HPRT1*, w odniesieniu do parametrów kliniczno-patologicznych.

	<b>ITGB1 (ilość kopii mRNA dla ITGB1/ 1000 kopii HPRT1)</b>	<b>p</b>
FIGO		$p^a < 0,05$
I	563,42±98,74	
II	436,56±112,41	
III	495,86±261,29	
IV	216,51±127,42	
Grade (G)		$p^a < 0,05$
1	607,84±152,16	
2	437,28±97,45	
3	274,71±104,83	
naciekanie mięśniówki		$p^b < 0,05$
<1/2	562,58±138,14	
>1/2	364,11±107,88	
przerzuty do węzłów chłonnych		$p^b < 0,05$
brak	628,43±142,49	
obecne	258,21±118,24	

$p^a$  – test Kruskala-Wallis  
 $p^b$  – test Manna-Whitneya

**Tabela IV.** Iloraz szans OR (95%CI) wzrostu stopnia złośliwości w raku błony śluzowej trzonu macicy w odniesieniu do stopnia naciekania mięśniówki i obecności przerzutów w węzłach chłonnych.

	<b>G1</b>	<b>G2, 3</b>	<b>OR (95% CI)</b>
naciekanie mięśniówki			
<1/2	19	47	
>1/2	3	38	4,85 (1.32-17.71) $p = 0,02$
obecność przerzutów w węzłach chłonnych			
brak	20	70	
obecne	1	15	4,28 (0.53-34.45) $p = 0,17$

podobny odsetek, w porównaniu z grupą badawczą użytą przez Creasmana i wsp., [13] (90%), natomiast większy niż w badaniach prowadzonych przez Hasanuddina i wsp. (63%), którzy w populacji Indonezji analizowali ekspresję *CDH1* i *ITGB1* na poziomie białka, w 56 archiwalnych preparatach nowotworów błony śluzowej trzonu macicy [11]. Hasanuddin i wsp. różnice te tłumaczą większą średnią długością życia kobiet w krajach rozwiniętych oraz częstszym stosowaniem przez nie hormonalnej terapii zastępczej [11].



Katarzyna Wójcik-Krowiranda, et al. Ekspresja genów kodujących E-kadherynę i  $\beta$ 1-integrynę w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy.

Analiza ekspresji genu *CDH1* wykazała, że jest ona w znacznym stopniu ujemnie skorelowana z progresją i obecnością przerzutów raka błony śluzowej trzonu macicy, zarówno w odniesieniu do stopnia zaawansowania FIGO, stopnia zróżnicowania, jak i stopnia naciekania mięśniówki oraz obecności przerzutów w węzłach chłonnych. Wyniki tych analiz są zgodne z danymi dotyczącymi ekspresji *CDH1* w nowotworach błony śluzowej trzonu macicy, na poziomie białka [11, 14]. Wydaje się, iż w procesie transformacji nowotworowej endometrium dochodzi do bezpośredniego przełożenia między ilością mRNA powstającego w procesie transkrypcji a białkiem syntetyzowanym w procesie translacji. Podobne sugestie można wysunąć w odniesieniu do genu i białka  $\beta$ 1-integryny. Ilość powstającego mRNA odpowiada prawdopodobnie puli białka powstającego na matrycy mRNA. Znamienne statystycznie korelacja między ekspresją *CDH1* i *ITGB1* wskazuje na fakt, iż oba te geny oraz ich białkowe produkty biorą udział w tych samych procesach molekularnych. W badaniach prowadzonych na modelu mysim wykazano, że E-kadheryna odpowiada za prawidłowe różnicowanie, proliferację oraz funkcjonowanie komórek macicy. Dodatkowo w komórkach prawidłowych, białko to bierze udział w procesach kontrolujących poprawność procesu proliferacji i kierujących komórkę na drogę apoptozy [15]. W materiale nowotworowym pierwotna funkcja E-kadheryny ulega zmianie wraz z zahamowaniem ekspresji genu *CDH1* i syntezy kodowanego białka [16].

Zgodnie z danymi opublikowanymi przez Yi i wsp. oraz Kanga i wsp. jednym z molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za obniżanie ekspresji E-kadheryny w materiale nowotworowym jest metylacja w obrębie promotora genu *CDH1* [17,18]. Ponadto oba zespoły badawcze sugerują, że poziom E-kadheryny może być rozważany jako marker kliniczny stopnia zaawansowania w przypadku nowotworów błony śluzowej trzonu macicy [18].

Ekspresja  $\beta$ 1-integryny w komórkach błony śluzowej trzonu macicy ulega wahaniom w czasie cyklu menstruacyjnego, wzrasta w fazie wydzielniczej oraz pozostaje na dość wysokim poziomie w początkowym okresie ciąży, kiedy dochodzi do formowania kompleksu białek macierzy zewnątrzkomórkowej [19].

W procesie transformacji nowotworowej integryny biorą udział między innymi, w aktywacji 3-kinazy fosfatydyloinozytolu, który z kolei stymuluje procesy progresji i formowania przerzutów poprzez kaskadę sygnalizacyjną PI3K/Akt/mTOR [20].

Zmieniona ekspresja genów/białek uznanych za biomarkery procesu nowotworzenia może okazać się istotna z klinicznego punktu widzenia, zarówno w aspekcie prognostycznym, jak i terapeutycznym. Dodatkowo, analiza ekspresji genów na poziomie mRNA jest metodą wymagającą niewielkich ilości materiału pozyskanego od pacjentów oraz jest szybsza i mniej kosztowna w porównaniu do technik, za pomocą których oznaczany jest poziom białka. Cząsteczki adhezyjne, w tym kadheryny oraz integryny, mogą stać się podstawą stosowania terapii celowanych, których efektem będzie zahamowanie lub spowolnienie procesu powstawania przerzutów, bez równoczesnej ingerencji w prawidłowe środowisko komórek prawidłowych [21].

#### Oświadczenie autorów:

1. Katarzyna Wójcik-Krowiranda — autor pomysłu i tej pracy, kolekcja materiału biologicznego, zebranie piśmiennictwa, wstępne napisanie pracy – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Ewa Forma – współautor tekstu pracy, odpowiedzialna za korektę i zebranie piśmiennictwa.
3. Agnieszka Zaczek – autor założeń pracy, wykonanie badań laboratoryjnych, analiza wyników.
4. Anna Krześlak – opracowanie koncepcji badań, wykonanie oznaczeń laboratoryjnych, archiwizacja danych, opracowanie statystyczne wyników
5. Magdalena Bryś – opracowanie metodyki badań, nadzór nad stroną laboratoryjną pracy.
6. Andrzej Bienkiewicz – kolekcja tkanek do badań, ostateczna wersja i akceptacja pracy.

#### Źródło finansowania:

Praca nie była finansowana przez żadną instytucję naukowo-badawczą, stowarzyszenie ani inny podmiot, autorzy nie otrzymali żadnego wynagrodzenia.

#### Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

#### Piśmiennictwo

1. Parsons JT, Horwitz AR, Schwartz MA. Cell adhesion: integrating cytoskeletal dynamics and cellular tension. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010, 11, 633-643.
2. Heuberger J, Birchmeier W. Interplay of cadherin-mediated cell adhesion and canonical Wnt signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010, 2, a002915.
3. Canel M, Serrels A, Frame MC, Brunton VG. E-cadherin-integrin crosstalk in cancer invasion and metastasis. *J Cell Sci.* 2013, 15, 393-401.
4. Freemont AJ, Hoyland JA. Cell adhesion molecules. *Clin Mol Pathol.* 1996, 49, M321-M330.
5. Widel MS, Widel M. Mechanizmy przerzutowania i molekularne markery progresji nowotworów złośliwych. I. Rak jelita grubego. *Postępy Hig Med Dośw.* 2006, 60, 453-470.
6. Bex G, Staes K, van Hengel J, [et al.]. Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1). *Genomics* 1995, 26, 281-289.
7. Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, [et al.]. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. *Cancer Res.* 1994, 54, 3845-3852.
8. Humphries MJ, Newham P. The structure of cell adhesion molecules. *Trends Cell Biol.* 1998, 8, 78-83.
9. Borowska K, Jędrnych B, Czerny K, Zabielski S. Udział integrzyn w procesach fizjo- i patologicznych, *Pol Merk Lek.* 2006, 21, 362-366.
10. Huttenlocher A, Lakonishok M, Kinder M, [et al.]. Integrin and cadherin synergy regulates contact inhibition of migration and motile activity. *J Cell Biol.* 1998, 2, 515-526.
11. Hasanuddin H, Andriyono A, Primariadewi R, Bambang S. The Correlation of Decreased E-Cadherin and  $\beta$ 1-Integrin Expression with the Depth of Myometrial Invasion and Pelvic Lymph Node Metastasis in Resectable Endometrial Cancer. *Maj Obstet Ginekol Indones.* 2010, 34-3, 136-142.
12. Tavassoli FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology & Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. 1. IARC press: Lyon, 2003, 217-232.
13. Creasman W, Odicino F, Mainsounerne P. Carcinoma of the corpus uteri. *J Epidemiol Biostat.* 1998, 3, 35-61.
14. Tsuji T, Ibaragi S, Hu GF. Epithelial-mesenchymal transition and cell cooperativity in metastasis. *Cancer Res.* 2009, 69, 7135-7139.
15. Reardon SN, King ML, MacLean JA, [et al.]. CDH1 is essential for endometrial differentiation, gland development, and adult function in the mouse uterus. *Biol Reprod.* 2012, 86, 1-10.
16. Schmalhofer O, Brabletz S, Brabletz T. E-cadherin, beta-catenin, and ZEB1 in malignant progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2009, 28, 151-166.
17. Yi TZ, Guo J, Zhou L, [et al.]. Prognostic value of E-cadherin expression and CDH1 promoter methylation in patients with endometrial carcinoma. *Cancer Invest.* 2011, 29, 86-92.
18. Kang S, Kim JW, Kang GH, [et al.]. Comparison of DNA hypermethylation patterns in different types of uterine cancer: cervical squamous cell carcinoma, cervical adenocarcinoma and endometrial adenocarcinoma. *Int J Cancer.* 2006, 118, 2168-2171.
19. Shiokawa S, Yoshimura Y, Nagamatsu S, [et al.]. Expression of beta 1 integrins in human endometrial stromal and decidual cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996, 81, 1533-1540.
20. Levental KR, Yu H, Kass L, [et al.]. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell.* 2009, 139, 891-906.
21. Grosman-Dziewiszek P, Dziegiel P, Zabel M. Zaburzenia ekspresji genów w raku endometrium jako cel terapii. *Ginekol Pol.* 2011, 82, 276-280.