

Сравнительная иммуногистохимическая оценка экспрессии E-кадгерина и β -катенина при метастатическом и неметастатическом раке молочной железы неспецифического типа

М.В. Мнихович^{1,2}, Л.В. Кактурский^{1,2}, Т.В. Безуглова¹, К.Ю. Мидибер³, К.В. Буньков⁴, А.Г. Эрзиева⁵

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»; Россия, 117418 Москва, ул. Цюрупы, 3;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1;

³ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31 Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 119415 Москва, ул. Лобачевского, 42;

⁴ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии»; Россия, 214018 Смоленск, проспект Гагарина, 27;

⁵ГБУЗ «Городская клиническая больница им. А.К. Ерамишанцева Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 129327 Москва, ул. Ленская, 15

Контакты: Максим Валерьевич Мнихович mnichmaxim@yandex.ru

Цель исследования — иммуногистохимический анализ особенностей экспрессии, распределения и взаимодействия белков E-кадгерина и β -катенина в первичных опухолях молочной железы.

Материалы и методы. В исследуемую группу вошли 148 больных раком молочной железы (РМЖ), из которых 12 пациенток имели метастазы в лимфатических узлах и 45 пациенток — метастазы в печени. Экспрессию E-кадгерина и β -катенина на клетках РМЖ определяли при помощи иммуногистохимического метода с использованием специфических антител.

Результаты. Показано, что снижение и полное отсутствие экспрессии E-кадгерина наблюдались значительно чаще у больных РМЖ с развившимися в разные сроки метастазами в печени, чем у пациентов без метастазов (70 % случаев против 30 % случаев соответственно). Увеличение цитоплазматической иммунореактивности и ядерная транслокация β -катенина обнаружены более чем в 80 % случаев РМЖ, сопровождающегося развитием метастазов.

Выводы. Обнаруженные изменения экспрессии E-кадгерина и β -катенина в опухолевых клетках могут рассматриваться как факторы неблагоприятного прогноза при РМЖ. Появление экспрессии β -катенина свидетельствует об активации сигнальных путей, запускаемых aberrантной экспрессией эпителиальных кадгеринов, приводящих к увеличению подвижности и инвазии опухолевых клеток.

Ключевые слова: E-кадгерин, β -катенин, клеточная адгезия, рак молочной железы, эпителиально-мезенхимальный переход

Для цитирования: Мнихович М.В., Кактурский Л.В., Безуглова Т.В. и др. Сравнительная иммуногистохимическая оценка экспрессии E-кадгерина и β -катенина при метастатическом и неметастатическом раке молочной железы неспецифического типа. Опухоли женской репродуктивной системы 2018;14(2):14–20.

DOI: 10.17650/1994-4098-2018-14-2-14-20

Comparative immunohistochemical evaluation of E-cadherin and β -catenin expression in metastatic and non-metastatic breast cancer of non-specific type

M.V. Mnikhovich^{1,2}, L.V. Kakturskiy^{1,2}, T.V. Bezuglova¹, K.Yu. Midiber³, K.V. Bun'kov⁴, A.G. Erzieva⁵

¹Research Institute of Human Morphology; 3 Tsyuryupy St., Moscow, 117418, Russia;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia;

³City Clinical Hospital No. 31, Moscow Healthcare Department; 42 Lobachevskogo St., Moscow 119415, Russia;

⁴Smolensk Regional Institute of Pathology; 27 Prospekt Gagarina, Smolensk 214018, Russia;

⁵A.K. Eramishantsev City Clinical Hospital, Moscow Healthcare Department; 15 Lenskaya St., Moscow 129327, Russia

Objective: an immunohistochemical analysis of the features of expression, distribution and interaction of E-cadherin and β -catenin proteins in primary mammary tumors.

Materials and methods. The study group consisted of 148 relevant patients with breast cancer (BC), including patients with metastases in lymph nodes ($n = 12$) and liver ($n = 45$). E-cadherin and β -catenin expression on BC cells was determined using immunohistochemical method with specific antibodies.

Results. It was shown that the reduction and the total absence of E-cadherin expression was observed much more often in patients with BC with metastases in liver, than in patients without metastases (70 % of cases versus 30 % of cases respectively). An increase of cytoplasmic immune reactivity and a nuclear translocation of β -catenin are found in more than 80 % cases of BC with metastases.

Conclusion. The changes in the expression of E-cadherin and β -catenin in tumor cell can be considered as factors of a non-favorable prognosis of BC. The emergence of β -catenin expression indicates the activation of a signaling pathway which is triggered by the aberrant expression of epithelial cadherins leading to an increased mobility and invasion of tumor cells.

Key words: E-cadherin, β -catenin, cellular adhesion, mammary cancer, epithelial-mesenchymal transition

For citation: Mnikhovich M.V., Kakturskiy L.V., Bezuglova T.V. et al. Comparative immunohistochemical evaluation of E-cadherin and β -catenin expression in metastatic and non-metastatic breast cancer of non-specific type. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy systemy = Tumors of female reproductive system* 2018;14(2):14–20.

Введение

Одним из перспективных направлений оценки инвазивного и метастатического потенциала новообразований является изучение взаимодействия клеток между собой и с внеклеточным матриксом, регулируемого молекулами клеточной адгезии. К важнейшим из них относятся кадгерин и связанные с ними катенины, интегрины, адгезионные молекулы из суперсемейства иммуноглобулинов, селектины, клеточный детерминант CD 44 [1, 2]. Одними из основных элементов межклеточной адгезии как в нормальной, так и в опухолевой ткани являются молекулы кадгерина и катенинов. Особый интерес на сегодняшний день представляют кадгерин и β -катенин, поскольку, помимо влияния на адгезивные свойства клетки, он активно участвует и в других процессах, включая клеточный цикл и пролиферацию [3].

Молекулярный вес β -катенина составляет 92 кДа, его ген *CTNNB1* локализован в хромосоме 3p21. В клетке этот многофункциональный протеин присутствует в 3 формах: мембранной, цитоплазматической и ядерной. В мембране β -катенин формирует адгезивный комплекс с E-кадгерин и актиновым цитоскелетом с участием α -катенина. Известно, что β -катенин является важным компонентом типичного (канонического) Wnt-сигнального пути [4, 5]. Цитозольный пул, не связанный с E-кадгерин, очень нестабилен, и при отсутствии Wnt-сигнала происходит фосфорилирование β -катенина с участием мультимолекулярного комплекса, включающего киназу-3 β гликогенсинтазы (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β), казеин-киназу-1 α (casein kinase 1 α , CK1 α), структурный белок аксин и опухолевый супрессор APC (adenomatous polyposis coli). Данный протеин, включенный в этот комплекс, фосфорилированный GSK-3 β и CK1 α , затем расщепляется убиквитиновыми протеосомами, но при активации Wnt-пути сигнальной трансдукции происходит ингибирование разрушения β -катенина, и он транспортируется в ядро, где в составе комплекса TCF/LEF (T-cell factor/leucocyte enhancer factor) активирует транскрипцию гена циклина D1 и супрессирует ген *CDH1* [5, 6]. Результатом этих взаимодействий становятся редукция E-кадгерин-зависимой адгезии и пролиферация клеток. Например,

при заживлении язв пролиферирующая клеточная популяция с редуцированной клеточной адгезией будет замещать разрушенный эпителий, а в опухолях — определять злокачественный фенотип. Исследования последних лет доказывают, что β -катенин играет принципиальную роль в канцерогенезе. В 80 % случаев колоректального рака нарушение экспрессии β -катенина связано с мутацией в генах *APC* [6], *CTNNB1* и *AXIN1*. Подобные мутации также обнаружены при меланоме, гепатоцеллюлярной карциноме, раке тела матки и других опухолях [5, 7–9]. Сведения о β -катенине и его участии в Wnt-сигнальном пути при раке молочной железы (РМЖ) немногочисленны и противоречивы. Некоторые авторы подтверждают взаимосвязь между снижением экспрессии β -катенина и плохим прогнозом опухоли и ее клинико-морфологическими параметрами [3, 10]. Вместе с тем в других исследованиях не было найдено взаимосвязи между данным маркером и гистологическим типом, степенью дифференцировки, метастатическим потенциалом новообразования.

В эпителиальных тканях основным белком плазматических мембран эпителиоцитов, обеспечивающим стабильную межклеточную адгезию, является гликопротеин E-кадгерин, нарушения экспрессии которого часто наблюдаются при карциномах. На протяжении многих лет E-кадгерин рассматривали в качестве опухолевого супрессора [7, 11], поскольку при иммуногистохимических исследованиях образцов различных типов карцином во многих из них наблюдалось уменьшение, а иногда и полное исчезновение окрашивания E-кадгерина.

Нарушения межклеточной адгезии характерны для большинства злокачественных опухолей эпителиального происхождения [1]. Утрата экспрессии E-кадгерина наблюдается почти в 85 % случаев долькового РМЖ [9], а резкое снижение его экспрессии — в карциномах пищевода и желудка, гепатокарциномах. Для плоскоклеточного рака головы и шеи, немелкоклеточного рака легких, рака предстательной железы, рака толстой кишки описаны сохранение экспрессии E-кадгерина в медленно растущих доброкачественных вариантах и резкое снижение — в злокачественных формах [7, 12]. Считается, что снижение или утрата

экспрессии Е-кадгерина коррелирует с инвазивностью опухоли, формированием отдаленных метастазов и неблагоприятным клиническим прогнозом [13–15]. Следствием утраты Е-кадгерина опухолевыми клетками может стать появление у них способности к инвазии. Супрессия адгезивных свойств Е-кадгерина антителами к внеклеточному домену существенным образом меняла морфологию трансформированных эпителиальных клеток в культуре, стимулировала их миграцию на субстрате, и напротив, экспрессия экзогенного Е-кадгерина в клетках трансформированных эпителиальных линий снижала их инвазивные свойства и частично восстанавливала эпителиальный фенотип [7, 11].

Е-кадгерин в эпителиальных клетках выполняет не только адгезивную функцию. Е-кадгерин, входящий в состав межклеточных адгезионных контактов, в комплексе с опухолевым супрессором NF2 (мерлином) секвестрирует рецепторы эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) на мембране и тем самым ингибирует EGFR-сигналинг. При снижении экспрессии Е-кадгерина в опухолевых клетках наблюдалась активация EGFR-сигнального пути, также активировались MAPK- и Wnt-катениновый сигналинг, инактивировался сигнальный путь Нירו, регулирующий контактное торможение пролиферации [3, 10].

Классические кадгеринины, или кадгеринины I типа (Е-, N-, P-, R-, H-, EP-кадгеринины), являются трансмембранными белками и обеспечивают межклеточную адгезию за счет образования трансдимеров 2 соседних клеток в составе межклеточных адгезионных контактов [3, 11, 12] (рис. 1).

Принято считать, что основным механизмом прогрессии злокачественных опухолей эпителиального происхождения является эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) [1, 3, 13, 15]. В ходе ЭМП эпителиальные клетки утрачивают клеточную полярность и стабильную межклеточную адгезию, начинают экспрессировать мезенхимальные маркеры (N-кадгерин, виментин), приобретают миграционную активность и способность к инвазии в соседние ткани за счет выработки матриксных металлопротеиназ [2]. Нарушение стабильной межклеточной адгезии в ходе ЭМП во многих случаях связано с угнетением экспрессии Е-кадгерина.

Эпителиальному компоненту опухоли свойственен сложный генез. Высокие адгезивные свойства, пролиферативная активность, нарушение со стороны ядерного аппарата опухолевых клеток с вовлечением тонких регуляторных механизмов контроля клеточного деления, нарушения процессов апоптоза позволяют считать опухоли высокоагрессивными, склонными к быстрому росту и рецидивированию [15, 16].

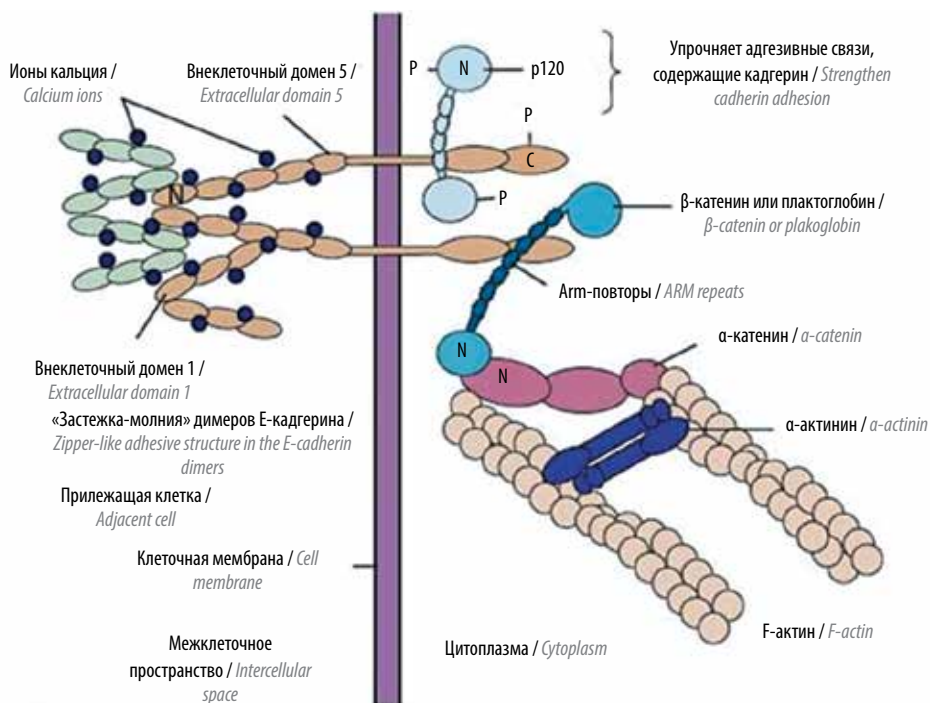


Рис. 1. Молекулярная организация межклеточного адгезионного контакта. Внеклеточный домен молекулы трансмембранного кадгерина состоит из 5 субдоменов, связывающих ионы кальция. Эктодомены EC2 молекул кадгерина образуют транс-димер. Цитоплазматический домен кадгерина связывается с белками адгезионной бляшки. Основные белки адгезионной бляшки p120-катенин и β-катенин непосредственно взаимодействуют с цитоплазматическим доменом кадгерина, а α-катенин связывается с β-катенином и активными филаментами

Fig. 1. Molecular structure of intercellular adhesion. The extracellular domain of the transmembrane cadherin consists of 5 subdomains that can bind calcium ions. Two cadherin ectodomains EC1 form a trans-dimer. The cytoplasmic domain of cadherins binds to the cytoplasmic plaque proteins: P120-catenin and α-catenin. P120-catenin and β-catenin interact directly with the cytoplasmic domain of cadherin, whereas α-catenin binds to β-catenin and active filaments

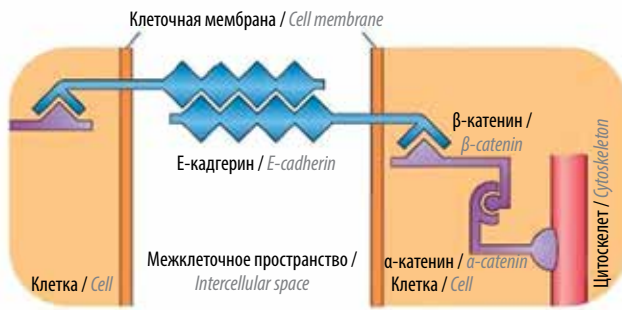


Рис. 2. Эпителиально-мезенхимальный переход
Fig. 2. Epithelial-mesenchymal transition

Как было сказано выше, межклеточную адгезию в эпителиальных тканях осуществляют трансмембранный кальцийзависимый гликопротеин E-кадгерин и внутриклеточный белок β -катенин, и для большинства злокачественных опухолей эпителиального происхождения характерны снижение или полное отсутствие экспрессии E-кадгерина и ядерная транслокация β -катенина. Указанные изменения сопровождаются существенным повышением инвазивной способности опухолевых клеток, сопряженной с запуском процесса ЭМП [2, 3, 15, 17] (рис. 2).

Одним из вероятных способов отследить динамику реализации ЭМП в клетках РМЖ представляется наблюдение за изменениями экспрессии ряда белковых маркеров.

Цель настоящего исследования — обоснование стратегической значимости своевременной оценки особенностей экспрессии молекул клеточной адгезии E-кадгерина и β -катенина в клетках РМЖ для прогнозирования течения и исхода заболевания.

Материалы и методы

Исследован операционный материал от 148 пациенток с РМЖ (карцинома молочной железы неспецифического типа), из которых 12 имели метастазы в лимфатических узлах и 45 — метастазы в печени. Все пациентки находились на лечении в медицинских учреждениях г. Москвы в период с 2012 по 2017 г. Возраст больных варьировал от 40 до 80 лет, средний возраст — 60 лет.

Экспрессию E-кадгерина, β -катенина на клетках РМЖ определяли при помощи иммуногистохимического метода с использованием специфических антител. Исследование проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 2 мкм по стандартной методике с применением следующей панели поликлональных антител: E-кадгерин (Dako, Lab Vision Flex), β -катенин (Dako, Lab Vision Flex). Интенсивность пероксидазной метки оценивали полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и количества антиген-положительных клеток: отрицательная (нет

реакции), слабopоложительная (<10 % окрашенных клеток), умеренная (>10 % клеток средней интенсивности окраски), выраженная (>50 % клеток высокой интенсивности окраски). При этом в подавляющем большинстве наблюдений преобладала мембранно-цитоплазматическая экспрессия E-кадгерина.

Результаты и обсуждение

Снижение экспрессии E-кадгерина наблюдалось у 75 % пациенток с метастазами в печень, в то время как у пациенток без метастазов подобные изменения наблюдались лишь в 30 % случаев (рис. 3, 4).

Существенные различия обнаружены и в экспрессии β -катенина: так, ядерная транслокация β -катенина

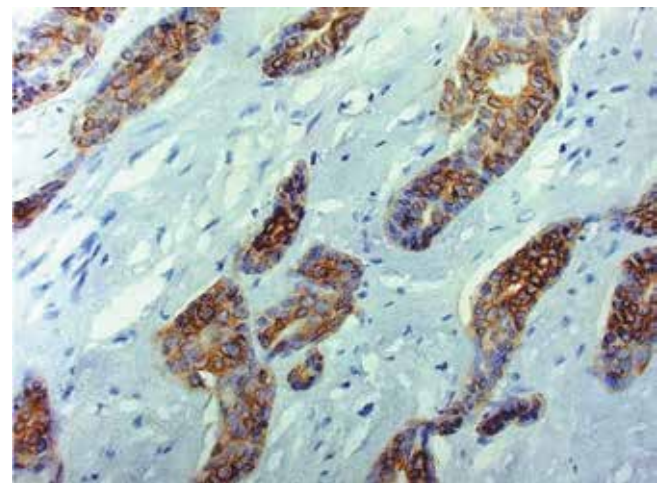


Рис. 3. Выявленная экспрессия E-кадгерина в образце неспецифического рака молочной железы без метастазов. Иммуногистохимическая реакция, $\times 200$

Fig. 3. Pronounced expression of E-cadherin in non-specific breast cancer without metastasis. Immunohistochemical staining, $\times 200$

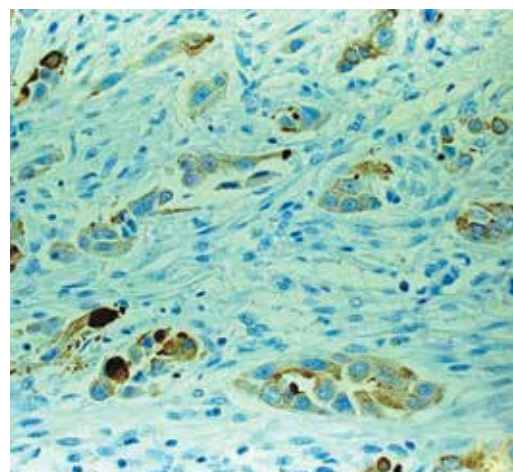


Рис. 4. Угнетение экспрессии E-кадгерина в образце неспецифического рака молочной железы с метастазами. Иммуногистохимическая реакция, $\times 200$

Fig. 4. Suppression of E-cadherin expression in non-specific breast cancer with metastasis. Immunohistochemical staining, $\times 200$

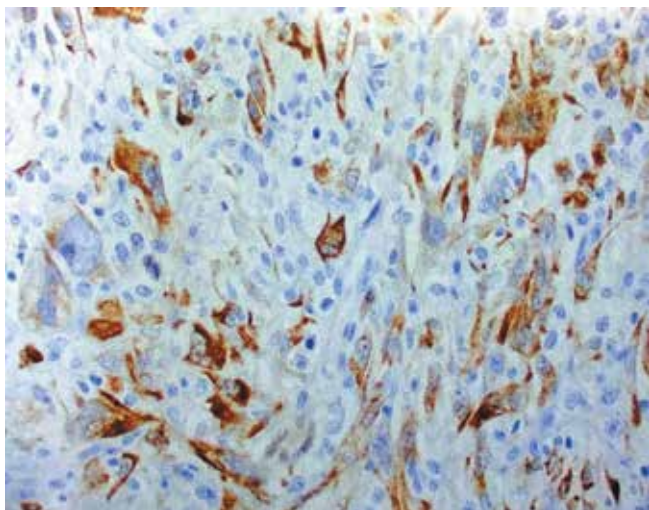


Рис. 5. Умеренная экспрессия β-катенина в образце неспецифического рака молочной железы без метастазов. Иммуногистохимическая реакция, ×200

Fig. 5. Moderate expression of β-catenin in non-specific breast cancer without metastasis. Immunohistochemical staining, ×200

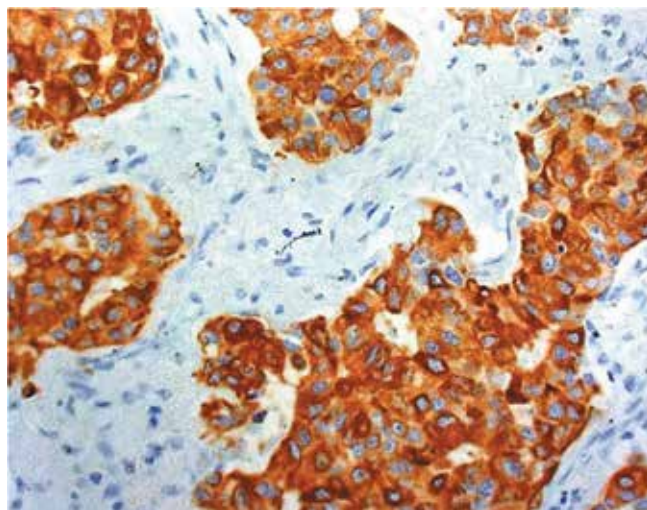


Рис. 6. Гиперэкспрессия β-катенина (цитоплазматическая экспрессия) в образце неспецифического рака молочной железы с метастазами. Иммуногистохимическая реакция, ×200

Fig. 6. Overexpression of β-catenin (cytoplasmic pattern) in non-specific breast cancer with metastasis. Immunohistochemical staining, ×200

и повышение иммунореактивности цитоплазмы наблюдались у 80 % пациенток с метастазами в печень и лимфатические узлы, при этом в подавляющем боль-

шинстве наблюдений преобладала мембранно-цитоплазматическая экспрессия β-катенина (рис. 5, 6).

Сводные данные по пациенткам приведены на рис. 7.



Рис. 7. Особенности экспрессии E-кадгерина и β-катенина у пациенток с раком молочной железы неспецифического типа

Fig. 7. Expression of E-cadherin and β-catenin in patients with non-specific breast cancer

Таким образом, и в случае РМЖ снижение экспрессии E-кадгерина и появление цитоплазматической экспрессии молекул β -катенина сопровождаются активацией ЭМП, в результате чего повышаются подвижность опухолевых клеток и их способность к инвазии. Соответственно, наблюдая вышеописанные изменения экспрессии адгезионных белков, можно оценить новообразование как высокоагрессивное, склонное к метастазированию.

Выводы

Результаты исследования показали, что снижение и полное отсутствие экспрессии E-кадгерина наблюдались значительно чаще у больных РМЖ с развивши-

мися в разные сроки метастазами в печени, чем у пациентов без метастазов (70 % случаев против 30 % случаев соответственно). Увеличение цитоплазматической иммунореактивности и ядерная транслокация β -катенина обнаружены более чем в 80 % случаев РМЖ, сопровождающегося развитием метастазов. Эти изменения экспрессии E-кадгерина и β -катенина в опухолевых клетках могут рассматриваться как факторы неблагоприятного прогноза при РМЖ. Появление экспрессии β -катенина свидетельствует об активации сигнальных путей, запускаемых aberrантной экспрессией эпителиальных кадгеринов, приводящих к увеличению подвижности и инвазии опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Мнихович М.В. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в опухолях: современное состояние проблемы. Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова 2013;3:161–71. [Mnikhovich M.V. Inter-cellular and cell-extracellular matrix interactions: current concept. Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akad. I.P. Pavlova = I.P. Pavlov Russian Medical Biological Bulletin 2013;3:161–71. (In Russ.)].
2. Zasadkevich Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Characteristics of the relation between epithelial-mesenchymal transition and proliferative activity in breast carcinomas. Eur J Cancer 2013;49(1):216.
3. Мнихович М.В., Вернигородский С.В., Буньков К.В. Эпителиально-мезенхимный переход, трансдифференциация, репрограммирование и метаплазия: современный взгляд на проблему. Морфологические ведомости 2017;25(3):14–21. [Mnikhovich M.V., Vernigorskiy S.V., Bun'kov K.V. Epithelial-mesenchymal transition, transdifferentiation, reprogramming and metaplasia: current concept. Morfologicheskie vedomosti = Morphological Newsletter 2017;25(3):14–21. (In Russ.)].
4. Kildal W., Risberg B., Abeler V.M. et al. Beta-catenin expression, DNA ploidy and clinicopathological features in ovarian cancer: a study in 253 patients. Eur J Cancer 2005;41(8):1127–34. PMID: 15911235. DOI: 10.1016/j.ejca.2005.01.022.
5. Bernard P., Fleming A., Lacombe A. et al. Wnt4 inhibits β -catenin/TCF signalling by redirecting β -catenin to the cell membrane. Biol Cell 2008;100(3):167–77. PMID: 17976036. DOI: 10.1042/BC20070072.
6. Sparks A.B., Morin P.J., Vogelstein B., Kinzler K.W. Mutational analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. Cancer Res 1998;58(6):1130–4. PMID: 9515795.
7. Berx G., Van Roy F. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. Breast Cancer Res 2001;3(5):289–93. PMID: 11597316.
8. Mayer B., Johnson J.P., Leitl F. et al. E-cadherin expression in primary and metastatic gastric cancer: down-regulation correlates with cellular dedifferentiation and glandular disintegration. Cancer Res 1993;53(7):1690–5. PMID: 8453643.
9. Frixen U.H., Behrens J., Sachs M. et al. E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. J Cell Biol 1991;113(1):173–85. PMID: 2007622.
10. Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А. и др. Роль эпителиальных E- и P-кадгеринов, а также β - и p120-катенинов в функционировании молочной железы. Вестник Уральской медицинской академической науки 2015;55(4):67–70. [Sazonov S.V., Zasadkevich Yu.M., Brilliant A.A. et al. Role of epithelial E- and P-cadherins and β - and P120-catenins in the breast functioning. Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science 2015;55(4):67–70. (In Russ.)].
11. Глушанкова Н.А., Житняк И.Ю., Айолло Д.В., Рубцова С.Н. Роль E-кадгерина в неопластической эволюции эпителиальных клеток. Успехи современной онкологии 2014;1:12–7. [Glushankova N.A., Zhitnyak I.Yu., Ayollo D.V., Rubtsova S.N. Role of E-cadherin in neoplastic evolution of epithelial cells. Uspekhi sovremennoy onkologii = Advances in Oncology 2014;1:12–7. (In Russ.)].
12. Imai T., Horiuchi A., Shiozawa T. et al. Elevated expression of E-cadherin and alpha-, beta- and gamma-catenins in metastatic lesions compared with primary epithelial ovarian carcinomas. Hum Pathol 2004;35(12):1469–76.
13. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимного перехода E-кадгерина и виментина при разных иммуногистохимических вариантах карциномы молочной железы. Уральский медицинский журнал 2014;116(2):29–32. [Zasadkevich Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Expression of epithelial-mesenchymal transition markers E-cadherin and vimentin in different immunohistochemical variants of breast carcinoma. Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal 2014;116(2):29–32. (In Russ.)].
14. Ayollo D.V., Zhitnyak I.Y., Vasiliev J.M. et al. Rearrangements of the actin cytoskeleton and E-cadherin-based adherens junctions caused by neoplastic transformation change cell-cell interactions. PLoS One 2009;4(11):e8027. PMID: 19956566. DOI: 10.1371/journal.pone.0008027.
15. Mnikhovich M., Kaktursky L., Zagrebina V. et al. Changes in expression of membrane-associated proteins connected to epithelial-mesenchymal transition during breast cancer progression. Virchows Arch 2017;471(Suppl 1):S66.
16. Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Вторушин С.В. и др. Взаимосвязь морфологической гетерогенности инфильтрирующего протокового рака молочной железы с различными формами опухолевой прогрессии. Сибирский онкологический журнал 2007;3:58–64. [Perel'muter V.M., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V. et al. Correlation between morphological heterogeneity of infiltrating

ductal carcinoma of the breast and various forms of tumor progression. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Oncology* 2007;3:58–64. (In Russ.).

17. Сазонов С.В., Конышев К.В., Казанцева Н.В. и др. Гистологические и имму-

ногистохимические проявления эпителио-мезенхимального перехода при тройном негативном раке молочной железы. *Вестник Уральской медицинской академической науки* 2016;2: 53–63. [Sazonov S.V., Konyshev K.V., Kazantseva N.V. et al. Histological and

immunohistochemical characteristics of epithelial-mesenchymal transition in triple negative breast cancer. *Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science* 2016;2:53–63. (In Russ.).

Вклад авторов

М.В. Мнихович: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, написание текста рукописи;
 К.В. Кактурский: научная консультация, обзор публикаций по теме статьи;
 Т.В. Безуглова: получение данных для анализа, анализ полученных данных;
 К.Ю. Мидибер: получение данных для анализа, анализ полученных данных;
 К.В. Буньков: научная консультация, обзор публикаций по теме статьи, научное редактирование рукописи;
 А.Г. Эрзиева: получение данных для анализа.

Authors' contributions

M.V. Mnikhovich: developing the research design, obtaining data for analysis, article writing;
 L.V. Kakturskiy: scientific consultation, reviewing of publications of the article's theme;
 T.V. Bezuglova: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
 K.Yu. Midiber: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
 K.V. Bun'kov: scientific consultation, reviewing of publications of the article's theme, article editing;
 A.G. Erzieva: obtaining data for analysis.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.