

## Сравнительная иммуногистохимическая оценка экспрессии E-кадгерина и $\beta$ -катенина при метастатическом и неметастатическом раке молочной железы неспецифического типа

М.В. Мнихович<sup>1,2</sup>, Л.В. Кактурский<sup>1,2</sup>, Т.В. Безуглова<sup>1</sup>, К.Ю. Мидибер<sup>3</sup>, К.В. Буньков<sup>4</sup>, А.Г. Эрзиева<sup>5</sup>

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

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

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

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

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

**Контакты:** Максим Валерьевич Мнихович [mnichmaxim@yandex.ru](mailto:mnichmaxim@yandex.ru)

**Цель исследования** — иммуногистохимический анализ особенностей экспрессии, распределения и взаимодействия белков E-кадгерина и  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -катенина обнаружены более чем в 80 % случаев РМЖ, сопровождающегося развитием метастазов.

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

**Ключевые слова:** E-кадгерин,  $\beta$ -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  $\beta$ -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 $\beta$ -catenin expression in metastatic and non-metastatic breast cancer of non-specific type

M.V. Mnikhovich<sup>1,2</sup>, L.V. Kakturskiy<sup>1,2</sup>, T.V. Bezuglova<sup>1</sup>, K.Yu. Midiber<sup>3</sup>, K.V. Bun'kov<sup>4</sup>, A.G. Erzieva<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Human Morphology; 3 Tsyuryupy St., Moscow, 117418, Russia;

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

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

<sup>4</sup>Smolensk Regional Institute of Pathology; 27 Prospekt Gagarina, Smolensk 214018, Russia;

<sup>5</sup>A.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  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -catenin are found in more than 80 % cases of BC with metastases.

**Conclusion.** The changes in the expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in tumor cell can be considered as factors of a non-favorable prognosis of BC. The emergence of  $\beta$ -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,  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -катенин, поскольку, помимо влияния на адгезивные свойства клетки, он активно участвует и в других процессах, включая клеточный цикл и пролиферацию [3].

Молекулярный вес  $\beta$ -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  $\beta$ -катенин формирует адгезивный комплекс с E-кадгерин и актиновым цитоскелетом с участием  $\alpha$ -катенина. Известно, что  $\beta$ -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  $\beta$ -катенина с участием мультимолекулярного комплекса, включающего киназу-3 $\beta$  гликогенсинтазы (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ ), казеин-киназу-1 $\alpha$  (casein kinase 1 $\alpha$ , CK1 $\alpha$ ), структурный белок аксин и опухолевый супрессор APC (adenomatous polyposis coli). Данный протеин, включенный в этот комплекс, фосфорилированный GSK-3 $\beta$  и CK1 $\alpha$ , затем расщепляется убиквитиновыми протеосомами, но при активации Wnt-пути сигнальной трансдукции происходит ингибирование разрушения  $\beta$ -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  $\beta$ -катенин играет принципиальную роль в канцерогенезе. В 80 % случаев колоректального рака нарушение экспрессии  $\beta$ -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  $\beta$ -катенине и его участии в Wnt-сигнальном пути при раке молочной железы (PMЖ) немногочисленны и противоречивы. Некоторые авторы подтверждают взаимосвязь между снижением экспрессии  $\beta$ -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 PMЖ [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

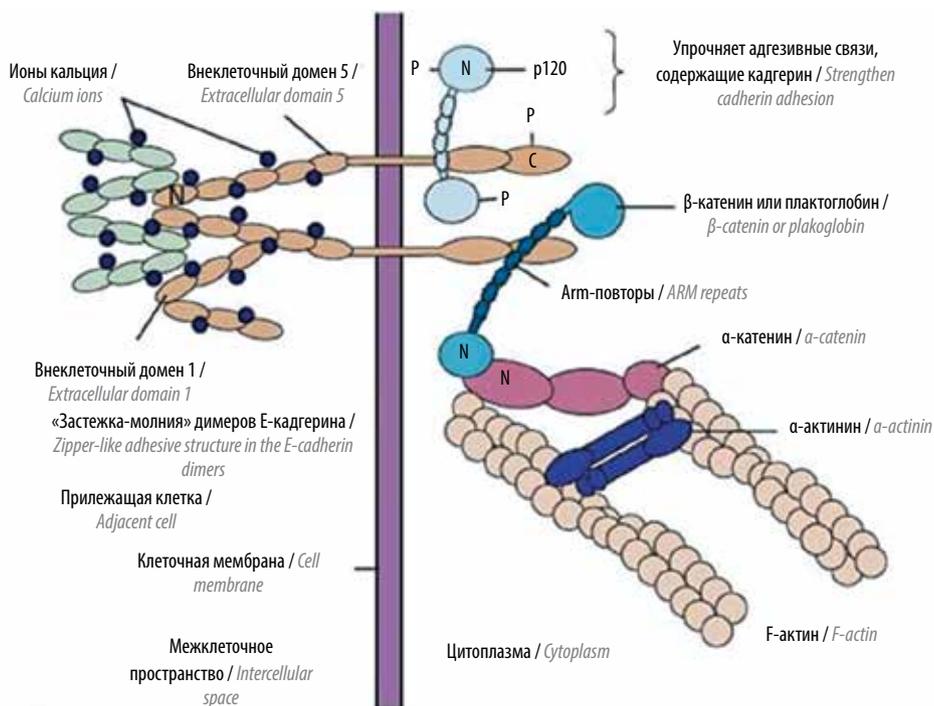
экспрессии Е-кадгерина коррелирует с инвазивностью опухоли, формированием отдаленных метастазов и неблагоприятным клиническим прогнозом [13–15]. Следствием утраты Е-кадгерина опухолевыми клетками может стать появление у них способности к инвазии. Супрессия адгезивных свойств Е-кадгерина антителами к 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 кадгерин, или кадгерин I типа (Е-, N-, P-, R-, H-, EP-кадгерин), 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 EC12 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 EC12 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

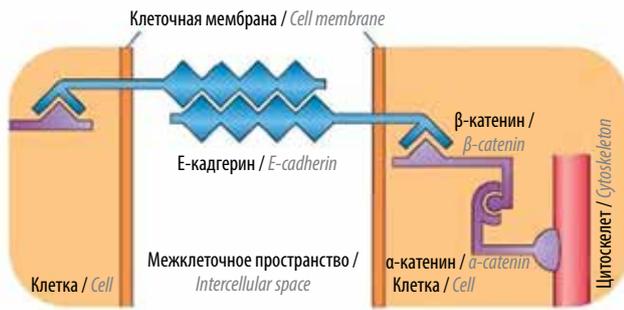


Рис. 2. Эпителиально-мезенхимальный переход

Fig. 2. Epithelial-mesenchymal transition

Как было сказано выше, межклеточную адгезию в эпителиальных тканях осуществляют трансмембранный кальцийзависимый гликопротеин Е-кадгерин и внутриклеточный белок β-катенин, и для большинства злокачественных опухолей эпителиального происхождения характерны снижение или полное отсутствие экспрессии Е-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 Е-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 Е-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: Е-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 Е-кадгерина.

### Результаты и обсуждение

Снижение экспрессии Е-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

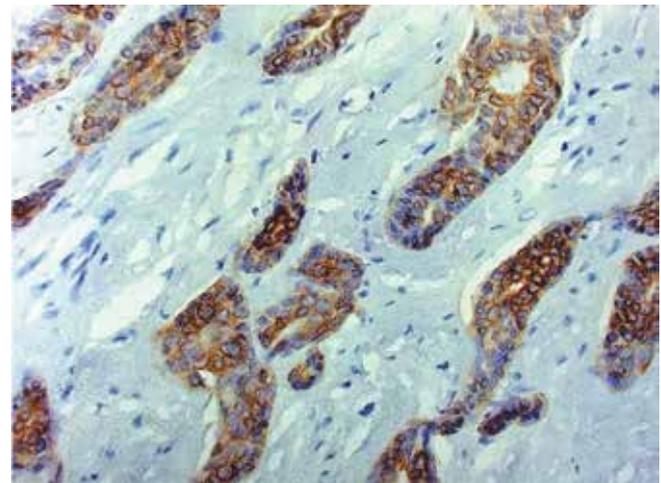


Рис. 3. Выявленная экспрессия Е-кадгерина в образце неспецифического рака молочной железы без метастазов. Иммуногистохимическая реакция, ×200

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

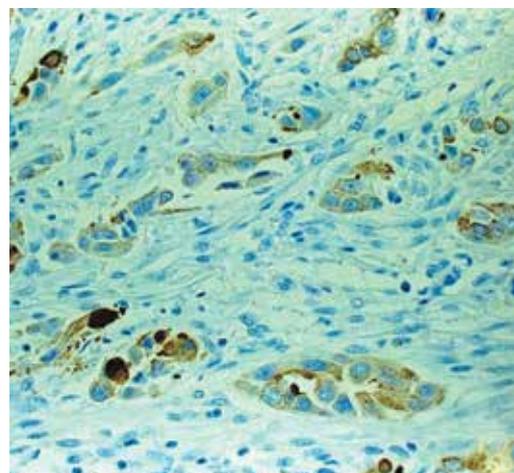


Рис. 4. Угнетение экспрессии Е-кадгерина в образце неспецифического рака молочной железы с метастазами. Иммуногистохимическая реакция, ×200

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

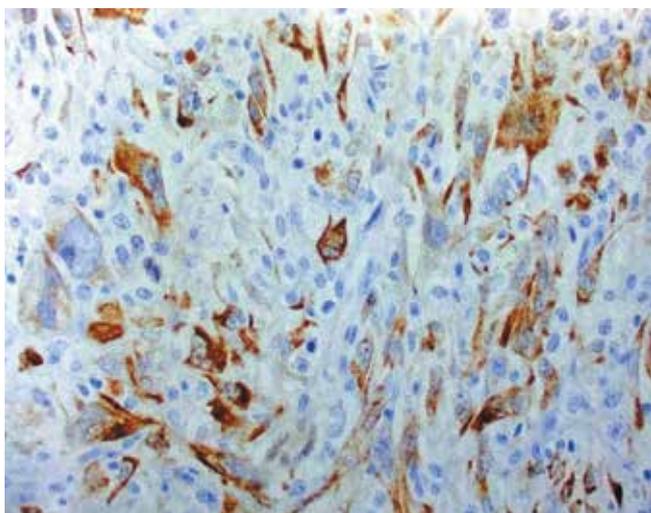


Рис. 5. Умеренная экспрессия  $\beta$ -катенина в образце неспецифического рака молочной железы без метастазов. Иммуногистохимическая реакция,  $\times 200$

Fig. 5. Moderate expression of  $\beta$ -catenin in non-specific breast cancer without metastasis. Immunohistochemical staining,  $\times 200$

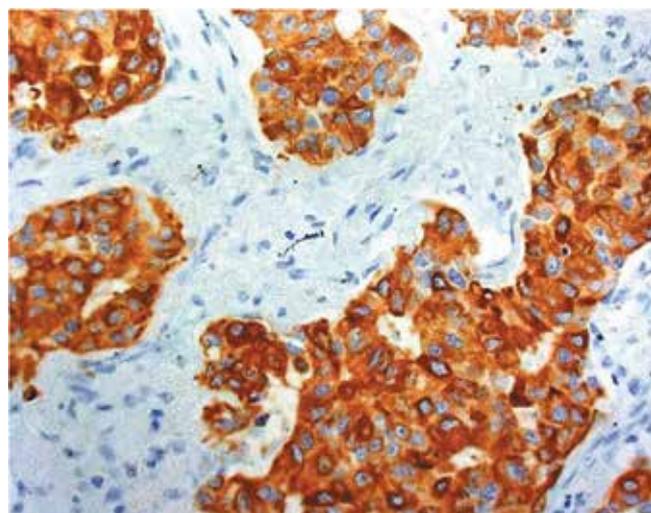


Рис. 6. Гиперэкспрессия  $\beta$ -катенина (цитоплазматическая экспрессия) в образце неспецифического рака молочной железы с метастазами. Иммуногистохимическая реакция,  $\times 200$

Fig. 6. Overexpression of  $\beta$ -catenin (cytoplasmic pattern) in non-specific breast cancer with metastasis. Immunohistochemical staining,  $\times 200$

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  $\beta$ -катенина (рис. 5, 6).

Сводные данные по пациенткам приведены на рис. 7.

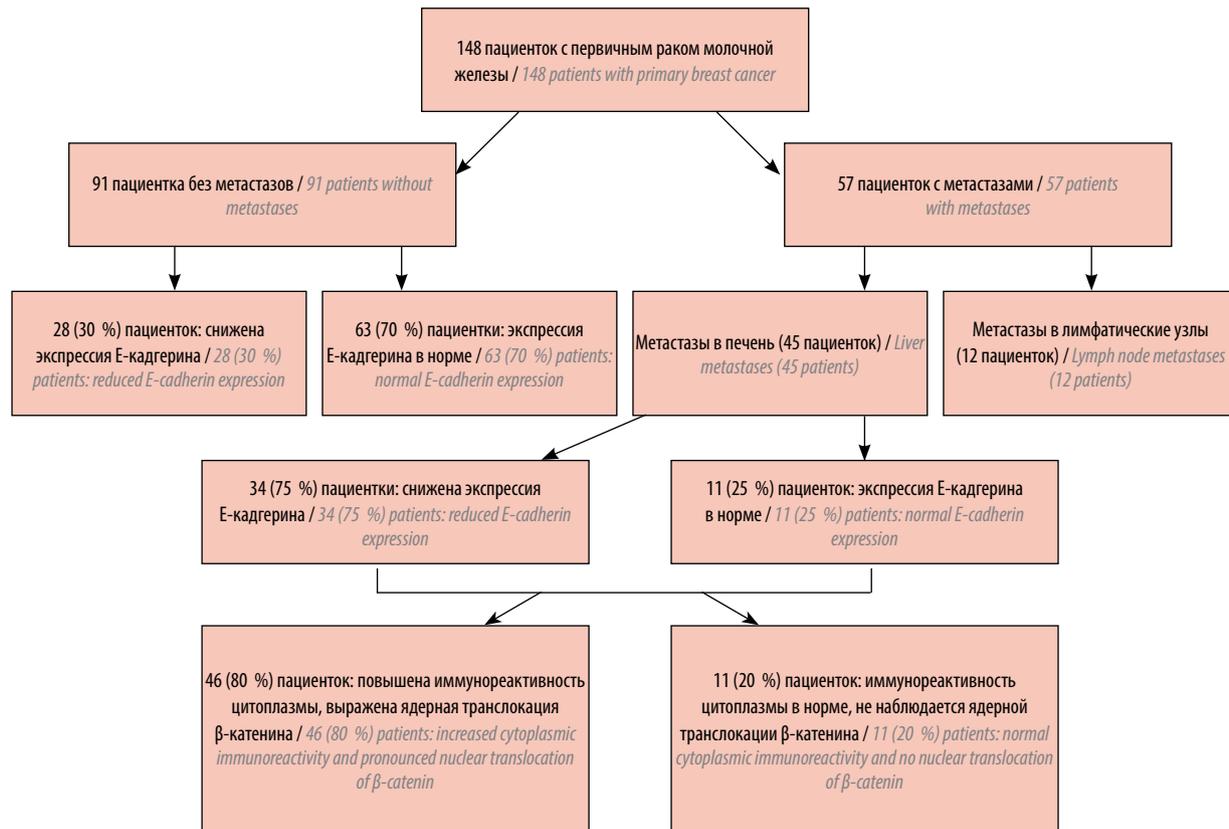


Рис. 7. Особенности экспрессии E-кадгерина и  $\beta$ -катенина у пациенток с раком молочной железы неспецифического типа

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

Таким образом, и в случае РМЖ снижение экспрессии E-кадгерина и появление цитоплазматической экспрессии молекул  $\beta$ -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  $\beta$ -катенина обнаружены более чем в 80 % случаев РМЖ, сопровождающегося развитием метастазов. Эти изменения экспрессии E-кадгерина и  $\beta$ -катенина в опухолевых клетках могут рассматриваться как факторы неблагоприятного прогноза при РМЖ. Появление экспрессии  $\beta$ -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  $\beta$ -catenin/TCF signalling by redirecting  $\beta$ -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  $\beta$ - 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  $\beta$ - 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 onkologicheskii 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.