



Сазонов Сергей Владимирович

Заведующий патолого-анатомическим отделением ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий

Заведующий кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

д.м.н., профессор
г. Екатеринбург

*Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Коньшев К.В.,
Бриллиант Ю.М., Казанцева Н.В., Токарева М.В.*

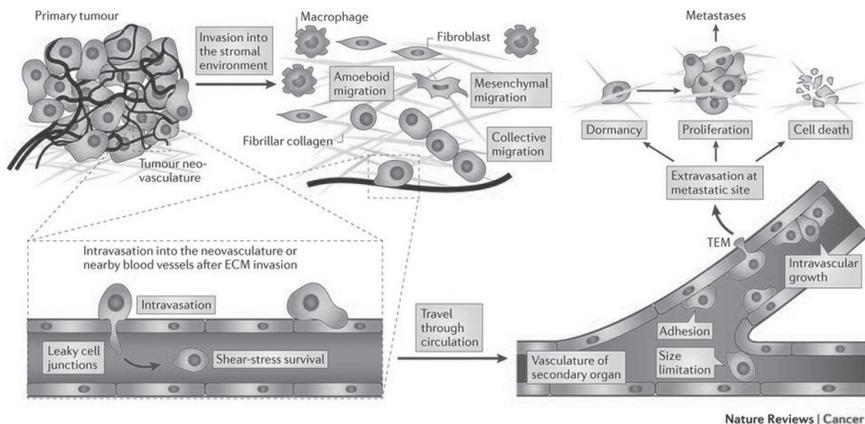
ЭПИТЕЛИО-МЕЗЕНХИМАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ В МОДЕЛИ ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. ОПУХОЛЕВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, Патолого-анатомическое отделение, Екатеринбург

Тройной негативный подтип рака молочной железы (ТН РМЖ) составляет до 11% всех случаев рака молочной железы, часто встречается у молодых пациенток, характеризуется: высокой степенью злокачественности (G3), наиболее частые гистологические варианты — инвазивный неспецифического типа (протоковый), медулярный, метапластический. определяется низкая степень дифференцировки, выраженные клеточный полиморфизм, высокое ядерно-цитоплазматическое отношение, высокий уровень пролиферации, выраженный апоптоз, центральные и комедо-некрозы, характеризуется плохим прогнозом течения заболевания, быстрым метастазированием. Для молекулярно-биологических исследований характерно отсутствие экспрессии рецепторов к стероидным гормонам (Estrogen и Progesterone), рецепторов к HER2, амплификации гена HER2 в 17 хромосоме, высокие уровни экспрессии Ki67, топоизомеразы Па, нарушения процессов репарации ДНК, наличие различных вариантов дупликаций и делеций ДНК, поломки в сигнальном пути BRCA1 [1–10].

При развитии ТН РМЖ у опухолевых клеток закономерно появляются инвазивные свойства, способность к направленному движению и формированию вторичных метастатических очагов. В рамках инвазивного роста можно предположить изменение биологических свойств клеток опухоли. В сложном инвазивно-метастатическом процессе между инвазией первичной опухоли в окружающие ткани и формированием метастатических фокусов — существу-

ет несколько этапов, прохождение которых строго обязательно для успешного развития и последующей прогрессии опухолевого роста: интравазация, выживание и циркуляция в системном кровотоке, экстравазация с последующей колонизацией органов опухолевыми клетками и формирование определяемого клинически метастаза [12, 13]. При этом биологические свойства опухолевых клеток первичного очага и метастаза могут значительно отличаться [14–16]. Среди факторов, ограничивающих рост злокачественного новообразования, можно выделить базальную мембрану эпителия, различные компоненты окружающей стромы, повышенное интерстициальное давление, ограничение



Nature Reviews | Cancer

Рис. 1. Схема развития миграции опухолевых клеток и формирование метастатического очага.

поступления к опухолевым клеткам кислорода и образование его активных форм, возникновение условий гипоксии, влияние клеток иммунной системы. Часть опухолевых клеток в таких условиях может подвергаться регрессии и гибели, в то время как другие клетки могут изменять свой фенотип и приобретать способность к метастазированию [1, 41, 42]. Инвазивный рост опухоли становится возможным в результате того, что в ее клетках происходят следующие основные события: злокачественно измененные эпителиальные клетки теряют апикально-базальную полярность вследствие разрушения плотных межклеточных соединений, щелевых контактов и утраты молекул клеточной адгезии (таких, как E-кадгерин, интегрины), изменяется актиновый цитоскелет клетки, наблюдается деградация подлежащей базальной мембраны эпителия, в результате чего лишенные межклеточных контактов опухолевые клетки становятся способными к инвазивному росту, проникновению в окружающий стромальный матрикс и начинают активный процесс миграции [12]. При этом в процесс инвазии активно включаются различные молекулярные и клеточные механизмы, которые проявляются развитием в опухоли так называемого эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), описанного впервые в 1995 году проф. E.D. Нау. Наряду с одиночной миграцией возможна коллективная клеточная миграция, когда мигрируют группы опухолевых клеток, сохра-

нивших между собой адгезионные контакты [17–21]. У движущейся клеточной группы имеется «ведущий край», клетки которого использует интегрины и протеазы. Исследователи указывают на отчетливые различия в экспрессии генов и морфологии клеток, формирующих ведущий край, и клеток, располагающихся позади них. Первые по своей морфологии зачастую напоминают мезенхимальные клетки и характеризуются менее выраженной упорядоченностью и структурной организацией, в то время как располагающиеся позади лидирующего фронта клетки стремятся к формированию более плотно упакованных структур, сохраняя при этом плотные межклеточные контакты [18]. При коллективной миграции опухолевые клетки в области ведущего края формируют выступы — псевдоподии, используют интегрины для образования фокальных контактов с актиновым цитоскелетом, осуществляют протеолитическое разрушение внеклеточного матрикса, создавая в нем пространство для инвазии опухолевой ткани, активно вовлекая в работу актин-миозиновый сократительный аппарат с целью успешной миграции [18,19]. Различия в полярности у коллективно движущихся групп клеток объясняются особенностями экспрессии поверхностных рецепторов, таких, как рецепторы хемокинов CXCR4 и CXCR7, на клетках ведущего края [17, 42]. ЭМП происходит в результате активации транскрипционных факторов TWIST1, Snail, Slug, ZEB1/2 и характеризуется высоким уровнем экспрессии протеаз и снижением экспрессии E-кадгерина. Snail и Slug способны подавлять экспрессию гена E-кадгерина, прямо связываясь с его промотором, а также продукцию таких эпителиальных белков, как десмоплакин и клаудин, активировать экспрессию виментина и матриксных металлопротеиназ, обеспечивая тем самым клеточную миграцию [18]. Группа исследователей во главе с проф. Sanchez-Tillo выяснили, что фактор транскрипции Snail не встречается в нормальных эпителиальных клетках, а его обнаружение в клетках инвазивного фронта опухоли может считаться прогностическим маркером плохой выживаемости онкологических больных [19].

В процессе реализации ЭМП происходит дедифференцировка клеток злокачественной эпителиальной опухоли, многоклеточные группы начинают разъединяться до одиночных опухолевых клеток, приобретающих мезенхимальный фенотип [22–24]. Ряд исследователей подчеркивают, что опухолевые клетки при мезенхимальном варианте движения проходят через ряд определенных последовательных шагов, представляющих собой пятиступенчатую модель миграции. Она включает в себя следующие изменения: 1) формирование на одном из полюсов клетки протрузионного выступа — ламеллиподии или филоподии за счет сокращений актинового цитоскелета под контролем малых GTP-аз Rac1 и Cdc42 с быстрым привлечением интегринов семейства $\beta 1$; 2) возникновение в области контакта клетки и внеклеточного матрикса фокальной адгезии с участием интегринов $\beta 1$ и $\beta 3$; 3) сборку фокальных контактов, основанную на интегрин-опосредованных взаимодействиях и активацию протеолитических ферментов (матриксных металлопротеиназ, сериновых и треониновых протеаз, катепсинов) на границе «клетка–матрикс», приводящую к разрушению и ремоделированию окружающего внеклеточного матрикса; 4) изменение поляризации актинового цитоскелета под опосредованным миозином II контролем, возникновение сокращений тела клетки и 5) «подтягивание» заднего края клетки в направлении движения по вновь образовавшимся дефек-

там в структуре матрикса [24]. Поскольку клетки, использующие фибробласто-подобный механизм инвазии, выполняют рассмотренные шаги миграции, скорость их движения невелика и составляет около 0,1–2 мкм/мин [41].

В процессе полного ЭМП опухолевые клетки отделяются от опухолевого массива и движутся по мезенхимальному типу миграции. Установлено существование в области инвазивного фронта ЭМП, при котором клетки, сохраняя межклеточные связи, уже приобретают свойства, необходимые для успешной миграции. Такой фенотип назван неполным «эпителиально-мезенхимальным» фенотипом. Клеточную миграцию наблюдали при развитии и прогрессировании рака молочной железы и эндометрия, рака предстательной железы, колоректального рака, крупноклеточного рака легкого, рабдомиосаркомы, меланомы, а также большинства плоскоклеточных карцином [26–28].

В пределах одной опухоли опухолевые клетки могут одновременно двигаться как коллективно, так и индивидуально. Подобное разнообразие вариантов клеточной миграции, вероятно, и приводит к развитию внутриопухолевой гетерогенности. При этом переход от коллективной миграции к индивидуальной представляет собой важнейший этап на пути повышения инвазивного и метастатического потенциала злокачественных новообразований.

Материал и методы исследования

Исследование проводится в лабораториях иммуногистохимии и молекулярно-биологических исследований патолого-анатомического отделения ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий». Предмет исследования - операционный материал пациенток с диагнозом инвазивный дольковый рак молочной железы, не получавших неoadъювантную химио- и лучевую терапию. Проведение исследований одобрено Этическим комитетом ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий (Протокол №5 от 22.12.2015 г.) [29–32]. Осуществлен отбор морфологического варианта инвазивного протокового РМЖ неспецифического типа (от англ. not otherwise specified) - наиболее часто встречающегося гистотипа РМЖ – всего 13284 случаев. Материал направлялся для проведения исследований из ГБУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер» (зав. патолого-анатомическим отделением — Казанцева Н.В.) и Городского маммологического центра при МАУЗ «Городская клиническая больница №40» г. Екатеринбург (зав. патолого-анатомическим отделением — к.м.н. Истомина О.Ю.). Тройной негативный подтип (ТНП) РМЖ выявлялся иммуногистохимическим методом определением наличия экспрессии к рецепторам Estrogen (ER), Progesterone (PR), HER-2/neu и индекса пролиферации Ki-67 [2]. Суррогатное определение Тройного негативного подтипа осуществляли по сочетанию характеристик: ER–, PR–, HER-2/neu–, Ki-67 любой. Всего выявлено ТНП РМЖ — 682 случая (5% случаев). Исследования PanKeratin проведены в 331 ТПН. Отобрано 72 случая (22%), в которых клетки опухоли не экспрессировали PanKeratin.

Иммуногистохимические исследования проводились с использованием автоматических систем окрашивания Ventana (США) и DAKO (Дания). Для определения экспрессии E-кадгерина использовались кроличьи моноклональные античеловеческие антитела E-cadherin (Clone EP700Y, Cell Marque, США), виментина — мышьиные моноклональные анти-свиные антитела Vimentin (Clone V9, DAKO, Дания), HER-2/neu на клетках опухоли осуществлялось с помощью

кроличьих моноклональных антител c-erb-2/HER-2 (Clone 4B5, Ventana, США), определение индекса пролиферации опухоли использовались кроличьи моноклональные античеловеческие антитела Ki-67 Antigen (Clone SP6, Spring Bioscience, США), рецепторов к гормонам с помощью кроличьих моноклональных античеловеческих антител Estrogen Receptor (Clone SP1, Spring Bioscience, США) и Progesterone Receptor (Clone SP2, Spring Bioscience, США). Экспрессия Е-кадгерина, PanKeratin оценивалась как положительная при окрашивании мембран исследуемых, экспрессия виментина расценивалась как положительная при позитивном цитоплазматическом окрашивании опухолевых клеток в поле зрения, ядерную экспрессию ER и PR на клетках карциномы оценивали по в соответствии с принципами шкалы Allred от 0 до 8, оценка уровня мембранной экспрессии HER-2/неу опухолевыми клетками производилась по шкале от 0 до 3, уровень пролиферации клеток опухоли по экспрессии Ki-67 рассчитывали по процентному отношению числа окрашенных ядер опухолевых клеток ко всем клеткам (%). В каждом случае оценивали не менее 600 опухолевых клеток [2, 3, 32–34]. Для определения опухолевых стволовых клеток иммуногистохимическим методом исследовали наличие экспрессии белка ALDH1 в клетках указанных карцином. Для определения экспрессии ALDH1 использовались антитела Rabbit Monoclonal Anti-Human ALDH1A1 (EP168) (Epitomics, USA). Оценку экспрессии ALDH1 в каждом случае определяли по количеству окрашенных опухолевых клеток [40]: 3+ (количество окрашенных клеток $\geq 50\%$), 2+ (количество окрашенных клеток меньше 50% но больше 10%), 1+ (количество окрашенных клеток $\leq 10\%$).

Результаты и их обсуждение

Случаи Тройного негативного подтипа составили около 5% всех случаев исследованных раков молочной железы, из них около 22% случаев инвазивный компонент опухоли не экспрессирует маркер эпителиальных клеток – PanKeratin. При гистологическом исследовании такого варианта ТНП подобраны случаи РМЖ, в срезе у которых одновременно имеется как внутрипротоковый, так и инвазивный компоненты опухоли. При ИГХ изучении срезов опухоли обнаружено, что экспрессия PanKeratin в опухолевых клетках полностью сохранена при их расположении внутри протоков. Опухолевые же клетки в инвазивном компоненте опухоли или полностью или частично утрачивают экспрессию PanKeratin. При изучении экспрессии Vimentin обнаружено, что клетки опухоли, расположенные в протоках и экспрессирующие PanKeratin не экспрессируют Vimentin, однако 85% клеток опухоли в инвазивном компоненте экспрессируют Vimentin, при этом только 5% сохраняют экспрессию PanKeratin. Исследование Е-кадгерина показало, что опухолевые клетки внутри протоков сохраняют его мембранную экспрессию, тогда как инвазия клеток за пределы протоков сопровождается ее полной потерей. Так же обнаружены различия в экспрессии Ki67, маркера отражающего уровень пролиферации в опухоли. Ядра опухолевых клеток в пределах протоков в месте начала их инвазии не экспрессируют Ki67, тогда как клетки инвазивного компонента показывают достаточно высокий уровень экспрессии ядерного белка (не менее 30%), отражающего активность процесса клеточной пролиферации. Экспрессии Estrogen, Progesterone, HER2 — не обнаружено в клетках ни внутри протоков, ни в инвазивном компоненте.

Несмотря на кажущуюся мозаичность обнаруженной картины экспрессии основных гистологических и иммуногистохимических маркеров на клетках ТНР молочной железы позволяет в то же время представить некую динамическую картину развития опухоли с изменением ее основных молекулярно-биологических свойств. Начало развития опухоли в люминальном эпителии и накопление ее массы осуществляется в соответствии с генетическим подтипом опухоли и с сохранением особенностей промежуточных филаментов, характерных для эпителия, основу которых составляет белок Keratin и сохранением межклеточных адгезионных контактов эпителиальных клеток с экспрессией E-кадгеринов. Начинаясь инвазивный рост опухоли из протока сопровождается появлением признаков, характерных для эпителио-мезенхимального перехода: опухолевые клетки дедифференцируются, меняются размеры и форма клеток, их ядерно-цитоплазматическое отношение, характерное для внутрипротокового компонента, значительно повышается клеточная гетерогенность, исчезает экспрессия E-кадгерина, появляются обособленные опухолевые клетки, которые часто меняют свою форму, становятся вытянутыми, веретенообразными, отростчатыми, что говорит об утрате между клетками адгезионных контактов, происходит перестройка промежуточных филаментов, разрушаются микрофиламенты, характерные для эпителиальных клеток и появляются промежуточные филаменты обычно экспрессирующиеся в клетках мезенхимной природы, происходит формирование клетками отростков и выпячиваний плазмолеммы. Установлено, что возникающие изменения клеточной формы в основном в этих случаях определяются формированием актинового цитоскелета, контроль над которым осуществляет малая GTP-аза RhoA и ее эффектор — киназа ROCK. GTP-аза входит в суперсемейство малых GTP-гидролаз, члены которого занимают основное место при амебоидном варианте инвазии, поскольку участвуют в передаче сигналов и тем самым в регуляции самых разнообразных процессов, происходящих в клетке, в том числе в реорганизации актинового цитоскелета в ходе миграции [10, 20, 25, 40, 41]. Стоит отметить, что при амебоидном механизме инвазии в процессе миграции изменяется форма не только клетки, но и клеточного ядра, его ориентации и внутреннего расположения относительно других органелл, поскольку отсутствует протеолитическая деградация окружающего матрикса и он сохраняет свой тургор. В солидной части опухоли клетки становятся более крупными, еще более усиливается их полиморфизм, они часто неправильной формы со светлой вакуолизированной цитоплазмой. При этом часть их сохраняет экспрессию PanKeratin, что позволяет говорить о наличии ко-экспрессии белков промежуточных филаментов, характерных как для эпителиальных так и для клеток мезенхимной природы, т.е. формировании неполного эпителио-мезенхимального перехода. Появление экспрессии Vimentin в опухолевых клетках может служить причиной диагностических ошибок из за неправильной оценки гистогенетического варианта опухоли. Проведенные генетические исследования клеток рака молочной железы человека методом гибридизации *in situ* одновременно на эпителиальные и мезенхимальные маркеры так же позволили обнаружить клетки опухоли, обладающие как эпителиальными, так и мезенхимальными маркерами при инвазивном раке молочной железы. Кроме того показано, что значительная часть циркулирующих опухолевых клеток, вы-

деленных из периферической крови больных с раком молочной железы или раком простаты, также экспрессируют и мезенхимальные и эпителиальные маркеры [40]. Таким образом, помимо обеспечения процессов инвазии и метастазирования злокачественной опухоли, программа ЭМП, по-видимому, играет основную роль в появлении опухолевых стволовых клеток (ОСК), формировании лекарственной резистентности и является причиной последующего развития рецидива заболевания у пациенток с раком молочной железы [36, 37]. Такие клетки были обнаружены в значительном количестве в месте реализации эпителио-мезенхимального перехода (Рис. 2).

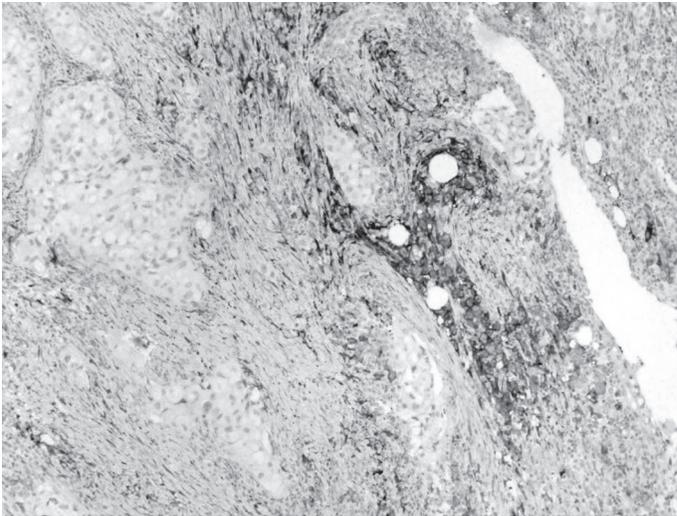


Рисунок 2. Клетки опухоли, экспрессирующие ALDH1 в месте реализации эпителио-мезенхимального перехода. ИГХ реакция. Ув. x100.

Если эпителиальная клетка хотя бы частично подвергается ЭМП, то она приобретает черты эпителиальной стволовой клетки. Помимо традиционного представления об ЭМП как о важном факторе, необходимом для успешного метастазирования, ЭМП можно рассматривать как фактор инициации опухолевого роста, приводящий к появлению ОСК, способных к метастазированию. ОСК — их свойства напоминают таковые у естественных стволовых клеток: они имеют промежуточный эпителиально-мезенхимальный фенотип, что позволяет им дифференцироваться как в эпителиальные, так и в мезенхимальные клетки, могут поддерживать свою популяцию (self-renewal), а так же способны к последующей дифференцировке в опухолевые клетки [27, 28]. Кроме того, эпителиально-мезенхимальная пластичность позволяет клеткам опухоли переключаться между состоянием мезенхимальной ОСК и состоянием более дифференцированной, способной к быстрой пролиферации эпителиальной опухолевой клетки, что обуславливает гетерогенность опухолевой популяции. Эпителиально-мезенхимальная пластичность подразумевает способность клетки находиться в промежуточном мезенхимальном состоянии, про-

являя различные комбинации эпителиальных и мезенхимальных свойств. Кроме того, из за молекулярно-биологических различий свойств опухолевых клеток и ОСК, последние обладают повышенной резистентностью к проводимым лечебным процедурам, включая химио- и радиотерапию [36], в результате чего именно они могут сохраняться и быть источником последующей репопуляции опухолевых клеток и рецидива опухоли после первоначального вроде бы успешного лечения (Рис. 3).

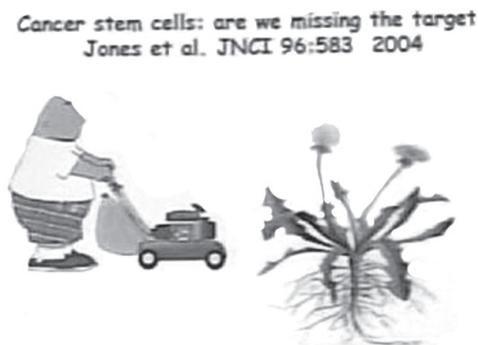


Рисунок 3. Механизм развития устойчивости опухоли к проводимой терапии.

ОСК отличаются от большинства клеток опухоли иммунофенотипически, а также по способности образовывать опухоли в различных экспериментальных моделях при очень небольшом числе клеток [38].

Источник ОСК дискутируется. Большинство авторов придерживается мнения, что ОСК могут образовываться из любой опухолевой клетки путем изменения экспрессии в ней генов и, следовательно, изменения ее свойств, в том числе приобретения клеткой так называемой стволовости (stemness). Другим их возможным источником являются нормальные стволовые клетки различных тканей. В ряде работ получены данные, позволяющие предположить тесную связь между внутриклеточными механизмами развития ЭМП в опухолевых клетках и приобретением ими свойств ОСК [37]. Так один из транскрипционных факторов, участвующих в ЭМП -Twist одновременно придает клеткам свойства ОСК. Повышение экспрессии Twist Snail в эксперименте приводит к индукции ЭМП в клетках, а также приобретению ими свойств ОСК (Рис. 4). Сходными свойствами обладает также транскрипционный фактор FOXC2 [20, 29]. Регулирующие ЭМП микроРНК, в частности семейство микроРНК-200, также участвуют в регуляции приобретения клетками свойств «стволовости» [30]. Молекулярные характеристики ОСК и клеток в состоянии ЭМП во многом схожи, хотя не идентичны [29]. Так, клетки рака молочной железы с характеристиками ОСК имели также признаки ЭМП (снижение экспрессии Е-кадгерина и экспрессия виментина), причем приобретение признаков ОСК (повышение экспрессии CD44 и снижение CD24) происходит в ответ на воздействие ТРФβ — наиболее изученного стимулятора ЭМП. Гиперэкспрессия генов Oct4, Nanog, Sox2, участвующих в перепрограммировании дифференцированных клеток в

плюрипотентные стволовые клетки, была выявлена в ряде низкодифференцированных опухолей [41].

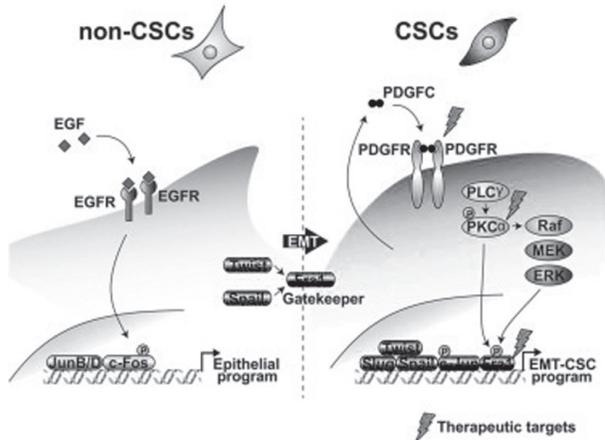


Рис. 4. Некоторые внутриклеточные механизмы, участвующие в запуске эпителио-мезенхимального перехода и индукции стволовых клеток опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брагина О.Д., Слонимская Е.М., Завьялова М.В., Телегина Н.С., Пельмутер В.М., Тарабановская Н.А., Дорошенко А.В. Предсказательное значение ряда молекулярных параметров у больных базальноподобным трипленегативным раком молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2014. 3. 5-10.
2. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Пожарисский К.М. Рак молочной железы. Практическое руководство для врачей. М: Практическая медицина; 2014.
3. Конышев К.В., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Изменение экспрессии рецепторов к эстрогену клетками карциномы молочной железы при регионарном метастазировании. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2015; 53(2): 4–6.
4. Sazonov S.V., Konyshev K.V. Her2/neu in local metastases and primary focus of breast cancer. *Virchows Arch.* 2015; 467(Suppl 1): S55.
5. Keam B., Im S.A., Lee K.H., Han S.W., Oh D.Y., Kim J. H., Lee S.H., Han W., Kim D.W., Kim T.Y., Park I. A., Noh D.Y., Heo D. S., Bang Y.J. Ki-67 can be used for further classification of triple-negative breast cancer into two subtypes with different response and prognosis. *Breast Cancer Res.* 2011. Vol. 13. R2. P. 1–7. doi:10.1186/bcr2834.
6. Choo J.R., Nielsen T.O. Biomarkers for Basal-like Breast Cancer. *Cancers.* 2010. Vol. 2. P. 1040–1065. doi: 10.3390/cancers2021040.
7. De Ruijter T.C., Veeck J., De Hoom J.P., van Engeland M., Tjan-Heijnen V.C. Characteristics of triple-negative breast cancer // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2011. Vol. 137 (2). P. 183–192. doi: 10.1007/s00432-010-0957-x
8. Perou C.M. Molecular Stratification of Tripl-negative Breast Cancer // *The*

Oncologist. 2011. Vol. 16 (1). P. 61–70. doi: 10.1634/theoncologist.2011-S1-61.

9. Sazonov S.V., Zasadkevich Y.M. Link between N-cadherin and HER2/neu expression in invasive lobular breast cancer. *European Journal of Pathology (Virchows Archiv)*, 2015; 467 (1), 59.

10. Заса́дкeвич Ю.М., Сазонов С.В., Бриллиант А.А. Роль кадгеринов в норме и при развитии рака молочной железы. *Архив патологии*. 2015; 77(3):57-64. doi: 10.17116/patol201577357-64

11. Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Изменение рецепторного статуса в группах пролиферативной активности карцином молочной железы// *Вестник Уральского медицинской академической науки*, 2013: 43 (1), 56-60.

12. Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Вторушин С.В., Перельмутер В.М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления. *АСТА NATURAE* | Т. 7, № 2 (25) 2015, 18-31.

13. Thompson E.W., Newgreen D.F. Carcinoma invasion and metastasis: a role for epithelial-mesenchymal transition? *Cancer Res.* 2005; 65: 5991—5.

14. Конышев К.В., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Экспрессия гормональных рецепторов клетками регионарных метастазов и первичного очага при раке молочной железы. *Уральский медицинский журнал*. 2014; (2): 48–50.

15. Sazonov S.V., Konyshov K.V. Her2/neu in local metastases and primary focus of breast cancer. *Virchows Arch.* 2015; 467(Suppl 1): S55.

16. Конышев К.В., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Изменение экспрессии рецепторов к эстрогену клетками карциномы молочной железы при регионарном метастазировании. *Вестник Уральского медицинской академической науки*. 2015; 53(2): 4–6.

17. Zasadkevich Y.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Features of vimentin and Ki67 expression in basal-like breast cancer. *EUC European Journal of Cancer*. 2013, 463 (2), S. 250.

18. Acloque H., Adams M.S., Fishwick K., Bronner-Fraser M., Nieto M.A. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J. Clin. Invest.* 2009; 119: 1438—49.

19. Micalizzi D.S., Farabaugh S.M., Ford H.L. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*. 2010; 15: 117—34.

20. Пучинская М.В. Эпителиально-мезенхимальный переход в норме и патологии. *Архив патологии*, 2015; 1 (71), 75-83.

21. Zasadkevich Y.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Characteristics of the relation between epithelial-mesenchymal transition and proliferative activity in breast carcinomas// *European Journal of Cancer*, 2013: 49 (2), 216.

22. Samavarchi-Tehrani P., Golipour A., David L., Sung H.K., Beyer T.A., Datti A. et al. Functional genomics reveals a BMP-driven mesenchymal-to-epithelial transition in the initiation of somatic cell reprogramming. *Cell Stem Cell*. 2010; 7 (1): 64—77.

23. Gunasinghe N.P., Wells A., Thompson E.W., Hugo H.J. Mesenchymal-epithelial transition (MET) as a mechanism for metastatic colonisation in breast cancer. *Cancer Metastas. Rev.* 2012; 31(3—4): 469-78.

24. Chao Y., Wu Q., Acquafondata M., Dhir R., Wells A. Partial mesenchymal to epithelial reverting transition in breast and prostate cancer metastases. *Cancer*

Microenvironment. 2012; 5: 19—28.

25. Zasadkevich Y.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Expression of markers of epithelial-mesenchymal transition E-cadherin and vimentin in different immunohistochemical subtypes of breast cancer. EUC European Journal of Cancer. 2014, Vol. 50, Supp. 5. S. 68.

26. Ke X.S., Qu Y., Goldfinger N., Rostad K., Hovland R., Akslen L.A. et al. Epithelial to mesenchymal transition of a primary prostate cell line with switches of cell adhesion modules but without malignant transformation. PLoS One. 2008; 3 (10): e3368.

27. Yates C.C., Shepard C.R., Stolz D.B., Wells A. Co-culturing human prostate carcinoma cells with hepatocytes leads to increased expression of E-cadherin. Br. J. Cancer. 2007; 96: 1246—52.

28. Tsai J.H., Donaher J.L., Murphy D.A., Chau S., Yang J. Spatiotemporal regulation of epithelial-mesenchymal transition is essential for squamous cell carcinoma metastasis. Cancer Cell. 2012; 22 (6): 725—36.

29. Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В. Роль молекулы клеточной адгезии E-кадгерина в онтогенезе человека в норме и патологии // Морфология. 2014. 146 (5). 78-82.

30. Солоницына Л.А., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Обеспечение прав пациентов на информацию и ее защиту при проведении референс-исследований карциномы молочной железы // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2013: 43 (1), 15-17.

31. Леонтьев С.Л., Сазонов С.В. Создание системы пересмотра иммуногистохимических исследований при диагностике рака молочной железы. Вестник уральской медицинской академической науки. 2012, 38 (1), С. 18-23.

32. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Опыт работы референс-лаборатории по HER2/neu тестированию карциномы молочной железы в Свердловской области // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2013: 43 (1), 56-60.

33. Zeisberg M., Neilson E.G. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. J. Clin. Invest. 2009; 119: 1429—37.

34. Франк Г.А., Андреева Ю.Ю., Виноградов И.Ю., Глатко С.Б., Горелик М.З., Завалишина Л.Э., Леенман Е.Е., Мационис А.Э., Петров С.В., Сазонов С.В. 10 лет тестирования HER2-статуса рака молочной железы в России // Архив патологии, 2012: 74 (5), 3-6.

35. Singh A., Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. Oncogene. 2010; 29(34): 4741—51.

36. Dave B., Mittal V., Tan N.M., Chang J.C. Epithelial-mesenchymal transition, cancer stem cells and treatment resistance. Breast Cancer Res. 2012; 14 (1): 202.

37. Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Идентификация стволовых опухолевых клеток при иммуногистохимических подтипах рака молочной железы. 2 Национальный конгресс по регенеративной медицине, Москва, 3-5 декабря, 2015 г., С.166.

38. Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности пролиферативной активности стволовых опухолевых клеток ALDH (3+) случаев базальноподобного рака молочной железы. Российский медико-биологический вестник, 2016, В.2, С.26-27.

39. Бриллиант А.А. Сазонов С.В. Стволовые опухолевые клетки и Noich-1 рецептор в «Basal-like» и «HER2 гиперэкспрессированных» инфильтративных карциномах молочной железы. II Петербургский онкологический форум «Белые ночи», Санкт-Петербург, 22-24 июня 2016 г. Сборник тезисов. С.380-381.

40. Сазонов С.В., Конышев К.В., Казанцева Н.В., Токарева М.В., Бриллиант Ю.М. Гистологические и иммуногистохимические проявления эпителио-мезенхимального перехода при тройном негативном раке молочной железы. Вестник уральской медицинской академической науки, 2016, №2 (57), С.53-64. doi: 10.22138/2500-0918-2016-14-2-53-63

41. Геращенко Т.С., Завьялова М. В., Денисов Е. В., Таширева Л. А., Литвяков Н.В., Цыганов М.М., Перельмутер В.М., Чердынцева Н.В. Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность инвазивного протокового рака молочной железы: формирование и молекулярно-генетические особенности. Медицинский академический журнал, 2012 г., 4(12). 66-68.