

УДК 616-006.6-091

*С.В. Сазонов^{1, 2}, А.А. Бриллиант¹, Ф.А. Фадеев^{1, 2},
С.М., Демидов^{1, 2}, С.Л. Леонтьев¹*
**ПЕРВЫЙ ОПЫТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК
РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

¹ Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, Российская Федерация;
² Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Российская Федерация

*S.V. Sazonov^{1, 2}, A.A. Brilliant¹, F.A. Fadeev^{1, 2},
S.M. Demidov^{1, 2}, S.L. Leontiev¹*

**FIRST EXPERIENCE OF CULTIVATION OF BREAST CANCER
CELLS**

¹ Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;
² Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

Резюме. Цель исследования — оценить изменения рецепторного аппарата клеток рака молочной железы при создании клеточной культуры Люминального В подтипа. **Материалы и методы.** Из опухоли приготавливали гистологические препараты, проводили иммуногистохимические исследования по стандартной методике для установления подтипа рака. Иммуногистохимические реакции проводили в автостейнере “Ventana”, США. Часть опухоли диссоциировали, полученные опухолевые клетки культивировали на протяжении 5 пассажей. Клетки выделяли с использованием трипсина с ЭДТА (0,25%), диспазы и 200 мкл ДНКазы I (концентрация 1 мг/мл). Для получения культуры маммосфер разводили клеточный осадок в полной среде Mammocult, переносили в неадгезивный планшет. Посевная доза — не более 4×10^3 клеток/см². Для получения культуры опухолевых клеток эпителиальной природы последние высаживались на культуральный пластик, покрытый тонким слоем коллагена. Клеточный осадок разводили в полной среде Epi-Cult-B с добавлением 5% FBS. Посевная доза $1-5 \times 10^4$ клеток/см². Инкубировали 24 часа при 37°C и 5% CO₂, затем заменяли среду на бессывороточную. Клетки для проведения иммуноцитохимических исследований наносились на положительно заряженные адгезивные стекла, Superfrost Plus (Thermo scientific, Германия), фиксировались и окрашивались по обычной методике на автостейнере. **Результаты.** Цитологическая картина полученных клеток сходна с клетками исходного рака молочной железы, клетки имеют высокое отношение объема ядра к цитоплазме. Структура полученных одиночных клеток напоминает фибробласты и не отличается на всех этапах культивирования. Для подтверждения эпителиальной природы культивируемых клеток, каждый пассаж тестировался на экспрессию цитокератинов. Во всех пяти пассажах экспрессия цитокератинов обнаружена на боль-

Abstract. Objective. To assess the changes in the receptor apparatus of breast cancer cells when creating a cell culture of the Luminal B subtype. **Materials and methods.** Histological specimens were prepared from the tumor, immunohistochemical studies were carried out according to standard methods to establish the cancer subtype. Immunohistochemical reactions were performed at Ventana, the United States. Part of the tumor was dissociated, the tumor cells were isolated and cultured for 5 passages. Cells were isolated using trypsin with EDTA (0.25%), dispase, and 200 µl DNase I (concentration 1 mg / ml). To obtain the culture of mammospheres, the cell pellet was diluted in complete Mammocult medium, and transferred to a non-adhesive plate. Seeding density was no more than 4×10^3 cells / cm². To obtain a culture of tumor cells of epithelial nature, the latter were planted on tissue culture plastic, covered with a thin layer of collagen. The cell pellet was diluted in complete Epi-Cult-B medium supplemented with 5% FBS. The seeding density was $1-5 \times 10^4$ cells / cm². The culture was incubated for 24 hours at 37°C and 5% CO₂, then the medium was replaced with serum-free medium. Cells for immunocytochemical studies were deposited on positively charged adhesive glasses, Superfrost Plus (Thermo scientific, Germany), fixed and stained in the usual way using an autostainer. **Results.** The cytological picture of the cells obtained was similar to the cells of the original breast cancer. The cells had a nuclear-cytoplasmic ratio. The shape of the obtained single cells resembled fibroblasts and did not differ at all stages of cultivation. To confirm the epithelial nature of the cultured cells, each passage was tested for cytokeratin expression. In all five passages, cytokeratin expression was detected in most cultured cells. In the 4th passage, the cell culture was the most dense, the cells had a rounded shape, the nuclei differed in size and shape, the amount of cytoplasm varied. There were several monolayer clusters,

шинстве культивируемых клеток. На четвертом пассаже культура клеток наиболее плотная, ядра клеток отличаются по размерам и форме, количество цитоплазмы варьирует. Местами образовался монослой, морфология клеток соответствует клеткам рака молочной железы. В ходе работы получили культуры клеток, которые существенно отличаются рецепторным аппаратом, соответствуют разным иммуногистохимическим подтипам рака молочной железы. Только в результате третьего пассажа получили иммуногистохимический подтип, соответствующий первичной опухоли. Первый, второй и четвертый пассажи дали культуру клеток, с фенотипом характерным для тройного негативного рака молочной железы, отличающуюся от первичной опухоли высокой пролиферацией и отсутствием рецепторов. Таким образом, в результате выполненного исследования выявлено, что рецепторный аппарат культивируемых клеток рака молочной железы Люминального В подтипа может меняться после каждого пассажа.

Ключевые слова: рак молочной железы, рецепторный аппарат, клеточное культивирование, молекулярно-биологический подтип, Люминальный В подтип

the cell morphology corresponded to breast cancer cells. In the course of the work, cell cultures were obtained, which differed significantly in receptor apparatus, and therefore, belonged to different immunohistochemical subtypes. Only as a result of the third passage, an immunohistochemical subtype corresponding to the primary tumor was obtained. The first, second and third passages gave a cell culture, with a phenotype characteristic of triple negative breast cancer, differing from the primary tumor by high proliferation and the absence of receptors. Thus, as a result of the study, it was revealed that the receptor apparatus of cultured breast cancer cells of the Luminal B subtype may change after each passage.

Keywords: breast cancer, receptor apparatus, cell cultivation, molecular biological subtype, Luminal B subtype

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Сазонов Сергей Владимирович
prof-SSazonov@yandex.ru

Contact details of the corresponding author:

Sergey V. Sazonov
prof-SSazonov@yandex.ru

Дата поступления 27.11.2018

Received 27.11.2018

Образец цитирования:

Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Фадеев Ф.А., Демидов С.М., Леонтьев С.Л. Первый опыт культивирования клеток рака молочной железы. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018, Том 15, №6, с. 860–867, DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-6-860-867

For citation:

Sazonov S.V., Brilliant A.A., Fadeev F.A., Demidov S.M., Leontiev S.L. First experience of cultivation of breast cancer cells. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 6, pp. 860–867. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-6-860-867 (In Russ)

Рак молочной железы (РМЖ) гетерогенное заболевание, этиология и закономерности развития, прогрессии которого до сих пор до конца не установлены. Для изучения свойств этих опухолей используются методы, основанные на определении экспрессии клеточных рецепторов в операционном материале. Однако такое исследование затрудняет выявление генетических особенностей данного случая, а также исключает возможность тестирования возможной эффективности назначаемого препарата конкретной пациентке. Сегодня востребована экспериментальная

модель, созданная для конкретного случая: первичная клеточная культура опухоли с последующим выделением и поддержанием клеточной линии опухоли данной пациентки. Такая модель может быть использована для различных исследований: для генетического анализа, Днк метилирования, подбора чувствительности опухолевых клеток к лекарственным препаратам. Такие модели снимают ряд этических проблем, такими моделями легко манипулировать, зная их молекулярно-биологическую характеристику. Они могут быть использованы для изучения внутрикле-

точных сигнальных путей и выявления «критических» генов, вовлеченных в канцерогенез. Это дает важную комплексную информацию о полигенетической структуре конкретного случая, а также раскрывает молекулярно-биологические механизмы, активируемые при развитии опухоли. Характеристика опухолевых клеточных линий имеет также существенное значение при разработке новых противоопухолевых препаратов, а также корректировки имеющихся схем терапии для конкретного случая, входящего в определенный молекулярно-генетический подтип. Однако существуют и недостатки культивирования опухолевых клеточных линий. Клеточные линии склонны к генотипическому и фенотипическому дрейфу во время их постоянного культивирования. Такая особенность проявляется у наиболее часто используемых клеточных линий, особенно тех, которые сохраняются в банках клеток в течение многих лет. Гетерогенность может возникать и вызывать фенотипические изменения во времени в результате отбора наиболее быстро растущих клонов в популяции [1]. Кроме того, при культивировании всегда существует опасность кросс-контаминации и получения ложных клеточных линий, поэтому важнейшим этапом при культивировании клеточных линий является их постоянная проверка и идентификация. Для сортировки полученных клеточных линий в настоящее время применяется иммунотипирование, иммуногистохимическая идентификация, в том числе и для рака молочной железы. Чаще всего выделяют 4 иммуногистохимических подтипа РМЖ: Люминальной А, Люминальной Б, HER-2 позитивный, Тройной негативный подтипы [3]. Однако имеются наблюдения, позволяющие сделать вывод что первоначальный иммуногистохимический подтип опухоли в ходе создания и последующего поддержания клеточной линии может претерпевать существенные генетические и эпигенетические трансформации, что, в конечном итоге, приводит даже к смене подтипа опухоли [2, 4-12]. В своей работе мы постарались проследить возможные изменения рецепторного аппарата клеток рака молочной железы при культивировании на протяжении 5 пассажей.

Цель исследования — оценка возможных изменений рецепторного аппарата клеток рака молочной железы при создании клеточной культуры Люминального В подтипа.

Материалы и методы

Из опухоли приготавливали гистологические препараты, проводили иммуногистохимические исследования по стандартной методике для установления подтипа рака. Часть опухоли молочной железы была диссоциирована, опухолевые клетки были выделены и культивированы на протяжении 5 пассажей.

Гистологический метод

Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 1-2 суток, осуществлена его проводка по спиртам, после чего материал был залит в парафиновые блоки. Изготовление серийных срезов толщиной 4 мкм осуществляли на ротационном микротоме Microm HM340 (MICROM Labor gerate GmbH) с системой переноса срезов. После депарафинизации производили гистологическую окраску с помощью гематоксилина Майера и эозина.

Культивирование клеток опухоли.

Диссоциация тканей:

1. Измельченный фрагмент ткани, помещали в раствор коллагеназы/гиалуронидазы (разводится в полной среде Epi-Cult-C или в смеси DMEM/F-12).

2. Ткань в растворе коллагеназы помещали на шейкер и инкубировали при 37°C около 16 часов, до растворения крупных фрагментов ткани.

3. Диссоциированную ткань помещали в 50-миллилитровую пробирку, центрифугировали 30 секунд при 80g.

4. Удаляли плавающий на поверхности слой жира. Получен осадок А.

5. Супернатант переносили в другую 50-миллилитровую пробирку, центрифугировали 3 минуты при 200g. Полученный осадок В содержал эпителиальные, стромальные клетки и эритроциты.

6. Центрифугировали супернатант в новой пробирке в течение 5 минут при 350g. Полученный осадок содержал фибробласты молочной железы.

Дальнейшее выделение клеток:

1. Добавляли к осадку А 1-5 мл теплого трипсина с ЭДТА (0,25%), ресуспендировали клетки пипеткой, затем, в течение 1-3 минут 1-миллилитровым дозатором. Смесь должна стать тягучей из-за лизиса мертвых клеток и высвобождения ДНК. Можно использовать и осадок В, но полученная из него культура будет более гетерогенной, с примесью эпителиальных клеток.

2. Добавляли 10 мл холодного раствора Хенкса с 2% FBS (далее эта смесь будет называться HF), центрифугировали 5 минут при 350g.

3. Удалили как можно больше супернатанта. Клетки могут выглядеть как «тягучая субстанция», плавающая в HF.

4. Добавляли 2 мл теплой диспазы и 200 мкл ДНКазы I (концентрация 1 мг/мл). Перемешивали 1-миллилитровым дозатором в течение 1 минуты. Если образец оставался тягучим, добавляли еще 100 мкл ДНКазы.

5. Добавляли 10 мл холодного HF, фильтровали через 40-мкм фильтр в новую 50-миллилитровую пробирку. Центрифугировали 5 минут при 350g, удаляли супернатант.

Получение культуры маммосфер:

1. Разводили клеточный осадок в полной среде Mammoscult, переносили в неадгезивный планшет. По-

севная доза – не более 4×10^3 клеток/см².

2. Инкубировали 7 дней при 37°C и 5% CO₂.

3. Подсчитывали количество маммосфер с диаметром более 60 мкм.

Пересев культуры маммосфер:

1. Собирали культуральную жидкость с маммосферами в 50-миллилитровую пробирку. Центрифугировали 5 минут при 350g, удаляли супернатант.

2. Разводили осадок в 0,5-1 мл теплого трипсина с ЭДТА (0,25%), ресуспендировали 1-миллилитровым дозатором.

3. Добавляли 5 мл холодного HF, центрифугировали 5 минут при 350g, удаляли супернатант.

4. Осадок разводили в среде, сеяли клетки.

Получение культуры эпителиальных опухолевых клеток:

1. Разводили клеточный осадок в полной среде Epi-Cult-B с добавлением 5% FBS. Посевная доза $1-5 \times 10^4$ клеток/см².

2. Инкубировали 24 часа при 37°C и 5% CO₂, затем меняли среду на бессывороточную

Иммуногистохимический метод

Иммуногистохимическая реакция проводили в автоматизированной системе “Ventana”, USA. Для определения подтипа РМЖ провели иммуногистохимические исследования с использованием положительно заряженных адгезивных стекл Superfrost Plus (Thermo scientific, Германия). Для определения экспрессии HER-2/neu на клетках опухоли использовали моноклональные антитела Ventana anti-Her/2neu 4B5 Rabbit Monoclonal primary Antibody (Ventana, США), рецепторов Эстрогена (Estrogen receptor) и Прогестерона (Progesterone receptor) на ядрах клеток опухоли — с помощью моноклональных антител Confirm anti-Estrogen Receptor (SP1), Monoclonal Rb Anti-Progesterone Receptor (SP2) (Spring, США). Для определения индекса пролиферации опухоли использовались антитела Rb Anti-KI-67 (SP6) (Spring, США). Все пассажы тестировались на принадлежность к эпителиальным с помощью антитела anti-Pan Keratin (AE1/AE3/PCK26) Primary Antibody (Roche diagnostics, США) [13]. Оценку реакции осуществляли на роботизированном микроскопе “Zeiss ImagerM” (Германия).

Результаты исследования

В работе использован материал от пациентки раком молочной железы G3, T2N1M0. По итогам иммуногистохимического исследования выявлена экспрессия рецепторов Эстрогена — 5 баллов, Прогестерона — 4 балла, рецепторов тирозинкиназы HER-2/neu — на 2+, Ki67 — больше 30%. После проведения флуоресцентной гибридизации выяснилось, что амплификация гена HER2 отсутствует. Данный случай РМЖ по классификации иммуногистохимических подтипов

можно отнести к Люминальному В подтипу (рис. 1).

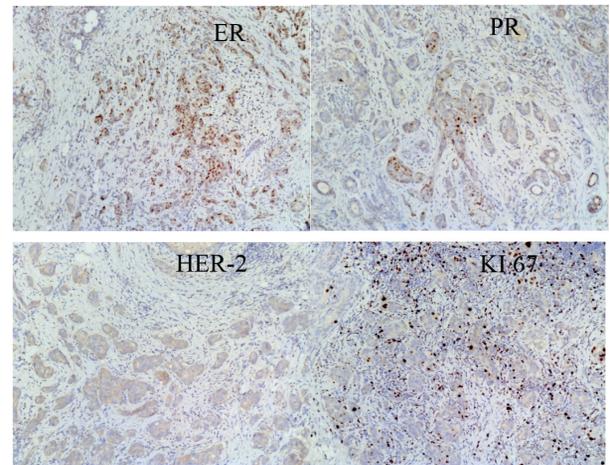


Рисунок 1. Первичный материал РМЖ. Иммуногистохимическое исследование. ER- с использованием антител к ER, PR, HER2 и Ki67. $\times 100$.

Figure 1. Primary Breast Cancer Material. Immunohistochemical study. ER- using antibodies to ER, PR, HER2 and Ki67. $\times 100$

При исследовании культуры клеток после первого пассажа мы получили фенотип, не соответствующий первичной опухоли. Клетки не экспрессировали рецепторы к Estrogen и Progesterone, экспрессия HER-2 рецепторов низкая (на 1+), индекс пролиферативной активности — 40%. Эти данные говорят о том, что клетки соответствуют тройному негативному (TN) иммуногистохимическому подтипу РМЖ (рис. 2).

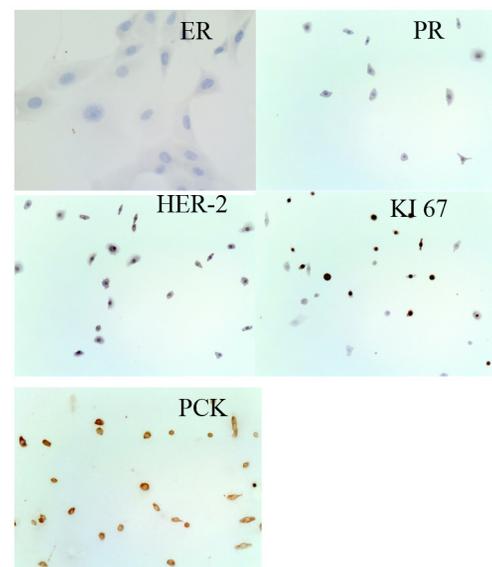


Рисунок 2. Клетки РМЖ после первого пассажа клеточной культуры. Иммуноцитохимическое исследование с использованием антител к ER, PR, HER2, Ki67 и панцитокератину (PCK). $\times 400$.

Figure 2. Breast cancer cells after the first passage of the cell culture. Immunocytochemistry using antibodies to ER, PR, HER2, Ki67 and pancytokeratin (PCK), $\times 400$.

Такой же результат получен при исследовании клеток после второго пассажа. Иммунофенотип клеток соответствует Тройному негативному (ТН) иммуногистохимическому подтипу РМЖ (рис.3)

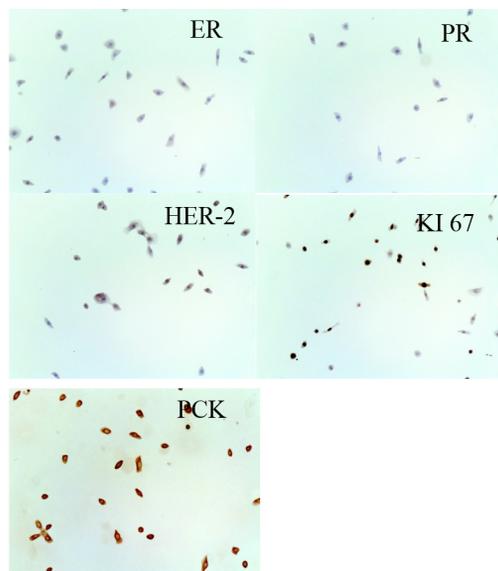


Рисунок 3. Клетки РМЖ после второго пассажа клеточной культуры. Иммуноцитохимическое исследование с использованием антител к ER, PR, HER2, Ki67 и панцитокератину (PCK) . ×400.

Figure 3. Breast cancer cells after the second passage of the cell culture. Immunocytochemistry using antibodies to ER, PR, HER2, Ki67 and pancytokeratin (PCK). ×400.

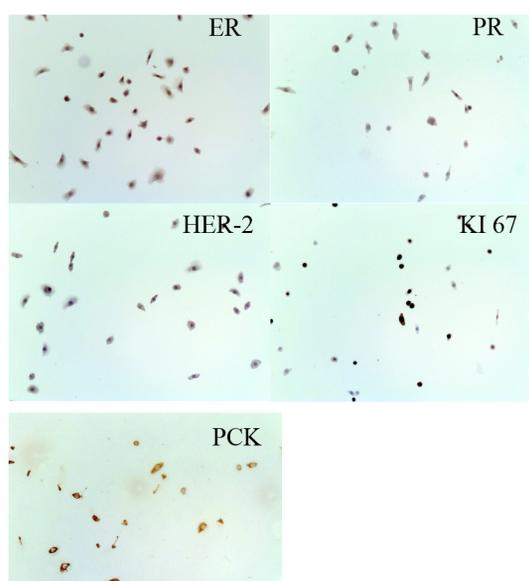


Рисунок 4. Клетки РМЖ после третьего пассажа клеточной культуры. Иммуноцитохимическое исследование с использованием антител к ER, PR, HER2, Ki67 и панцитокератину (PCK). ×400.

Figure 4. Breast cancer cells after the third passage of the cell culture. Immunocytochemistry using antibodies to ER, PR, HER2, Ki67 and pancytokeratin (PCK). ×400

При типировании клеток третьего пассажа обнаружены высокие значения экспрессии рецепторов стероидных гормонов к Estrogen (на 6 баллов) и Progesterone (на 5 баллов), низкая экспрессия HER-2 (на 1+), клетки в опухоли имеют высокую пролиферативную активность — Ki67 около 52%. Такой вариант соотношения экспрессии клеточных рецепторов и характеристик опухоли соответствует Люминальному В (исходному) подтипу (рис. 4).

После проведения четвертого пассажа и иммуноцитохимической оценки экспрессии рецепторов на клетках опухоли получили вновь изменение рецепторного аппарата — статус, характерный для тройного негативного (ТН) подтипа (негативный статус по экспрессии Estrogen Rec., Progesterone Rec., Her-2 и высокий индекс пролиферативной активности — около 45% клеток). Часть опухолевых клеток после четвертого пассажа образовали объёмные структуры — глобулы, экспрессия рецепторов тирозинкиназы (Her-2) в которых оказалась выше, чем в отдельно лежащих клетках (рис. 5).

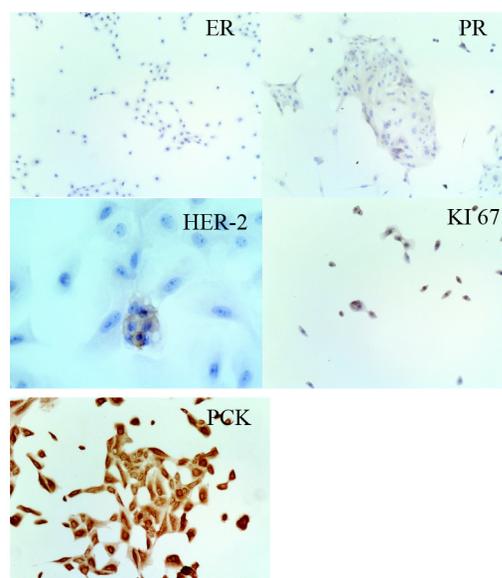


Рисунок 5. Клетки РМЖ после четвертого пассажа клеточной культуры. Иммуноцитохимическое исследование с использованием антител к ER, PR, HER2, Ki67 и панцитокератину (PCK). ×400, HER2 и PCK ×800.

Figure 5. Breast cancer cells after the fourth passage of the cell culture. Immunocytochemistry using antibodies to ER, PR, HER2, Ki67 and pancytokeratin (PCK). ×400, HER2 and PCK ×800.

После пятого пассажа мы получили культуру клеток, схожую по характеристикам рецепторного аппарата с первичной опухолью. Клетки имеют высокую экспрессию Estrogen Rec. и Progesterone Rec. — (по 6 баллов), слабую экспрессию HER-2 (1+), индекс Ki-67 — около 3%. Подобное соотношение экспрессии клеточных рецепторов и уровня их пролиферации в кле-

точной культуре соответствует характеристикам Люминального А подтипа РМЖ (рис. 6).

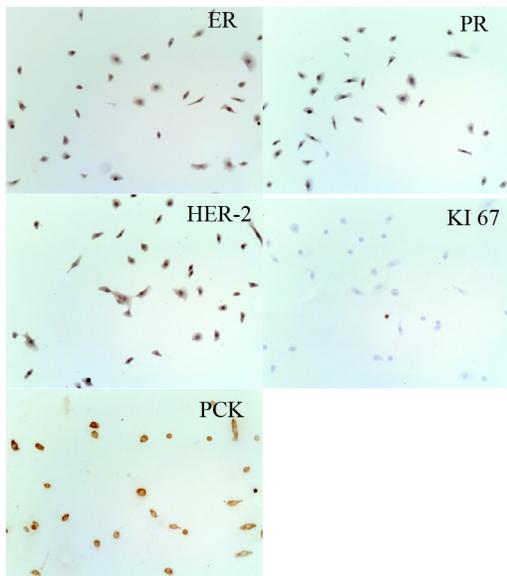


Рисунок 6. Клетки РМЖ после пятого пассажа клеточной культуры. Иммуноцитохимическое исследование с использованием антител к ER, PR, HER2, Ki67 и панцитокератину (PCK). $\times 400$.

Figure 6. Cells of breast cancer after the fifth passage of cell culture. Immunocytochemistry using antibodies to ER, PR, HER2, Ki67 and pancytokeratin (PCK). $\times 400$.

Заключение

При культивировании клеток, полученных из ткани РМЖ с биологическими характеристиками G3, Люминальный В подтип прослежено 5 пассажей клеточной культуры. Цитологическая картина полученных при культивировании опухолевых клеток сходна с исходными клетками рака молочной железы, клетки имеют высокое ядерно-цитоплазматическое отношение. Форма полученных одиночных клеток напоминает фибробласты и принципиально не различается на этапах культивирования. Для подтверждения эпителиальной природы культивируемых клеток, каждый пассаж тестировался на экспрессию панцитокератинов. В пяти пассажах экспрессия панцитокератинов обнаружена на большинстве культивируемых клеток. На четвертом пассаже культура клеток наиболее плотная, клетки имеют округлую форму, ядра отличаются по размерам и форме, количество цитоплазмы варьирует. Местами образовался монослой. Морфология клеток похожа на клетки ткани рака молочной железы. В ходе пересевов клеток получили культуры клеток, которые отличаются рецепторным аппаратом, соответствующим разным иммуногистохимическим подтипам РМЖ (Табл. 1).

Таблица 1
Изменение экспрессии рецепторов опухолевых клеток при культивировании

Table 1
Changes in the expression of tumor cell receptors during cultivation

	Характеристика рецепторного аппарата культивируемых клеток / Characteristics of the receptor apparatus of cultured cells				Соответствие подтипу / Subtype Compliance
	ER	PR	HER2	KI-67	
Первичный материал / Primary material	5	4	2+	30%	Люминальный В / Luminal B
1 Пассаж / Passage 1	0	0	1+	40%	Тройной негативный / Triple negative
2 Пассаж / Passage 2	0	0	0	50%	Тройной негативный / Triple negative
3 Пассаж / Passage 3	6	5	1+	52%	Люминальный В / Luminal B
4 Пассаж / Passage 4	2	2	1+ глобулы (2+)	45%	Тройной негативный / Triple negative
5 Пассаж / Passage 5	6	6	1+	3%	Люминальный А / Luminal A

Только после третьего пассажа была получена клеточная культура, по рецепторному аппарату соответствующая первичной опухоли. Первый, второй и четвертый пассажи дали культуру клеток с характеристиками тройного негативного (ТН) рака молочной железы, отличающуюся от первичной опухоли высокой пролиферацией и отсутствием экспрессии рецепторов.

В результате выполненного исследования обнаружено, что рецепторный аппарат культивируемых клеток рака молочной железы Люминального В подтипа меняется при каждом пассаже.

Работа выполнена в рамках государственного задания УГМУ № 056-00151-18-00

ЛИТЕРАТУРА

1. Cope L.M., Fackler M.J., Lopez-Bujanda Z. et al. Do breast cancer cell lines provide a relevant model of the patient tumor methylome? *PloS one*. 2014, p. 105545
2. Bahia H., Ashman J.N., Cawkwell L. et al. Karyotypic variation between independently cultured strains of the cell line MCF-7 identified by multicolour fluorescence in situ hybridization. *Int. J. Oncol.* 2002, No. 20 (3), pp. 489-94.
3. Hollestelle A., Nagel J.H., Smid M., et al. Distinct gene mutation profiles among luminal-type and basal-type breast cancer cell lines. *Breast cancer research and treatment*. 2010. No. 121. pp. 53-64.
4. 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. p. 216.
5. Мнихович М.В., Мидибер К.Ю., Галлямова А.Р. и др. Иммуногистохимическая оценка экспрессии кадгерин-катенинового комплекса при раке молочной железы. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2017. – № 6 (1). – С. 63-68.
6. Арутюнян Е.В., Бриллиант А.А., Новикова Е.А., Сазонов С.В. Некоторые закономерности экспрессии иммуногистохимических маркеров на клетках карциномы молочной железы. *Уральский медицинский журнал*. 2014. – № 2 (116). – С. 5-8.
7. Бриллиант Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Эпителиальные кадгерин и ассоциированные с ним молекулы при инвазивном дольковом раке молочной железы. *Архив патологии*. 2017. – № 1 (79). – С. 12-18.
8. Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М. Связь состояния пролиферативных процессов и особенностей рецепторного аппарата опухолевых клеток карциномы молочной железы. *Гены и клетки*. 2017. – № 12 (4). – С. 76-81.
9. Зasadkevich Ю.М., Сазонов С.В. Роль молекулы клеточной адгезии E-кадгерина в онтогенезе человека в норме и патологии. *Морфология*. 2014. – № 5 (146). – С. 78-82.
10. Зasadkevich Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Роль кадгеринов в норме и при развитии рака молочной железы. *Архив патологии*. 2015. – № 3 (77), – С. 57-64.
11. 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. – № 1 (43). – С. 56-60.
12. Франк Г.А., Андреева Ю.Ю., Виноградов И.Ю., и др. 10 лет тестирования HER2-статуса рака молочной железы в России. *Архив патологии*. 2012. – Т. 74. – № 5. – С. 3-6.
13. Tsuda H., Akiyama F., Terasaki H., et al. Detection of HER-2/neu (c-erb B-2) DNA amplification in primary breast carcinoma. Interobserver reproducibility and correlation with immunohistochemical HER-2 overexpression. *Cancer*. 2001, 92, pp. 2965-74.

REFERENCES

1. Cope L.M., Fackler M.J., Lopez-Bujanda Z. et al. Do breast cancer cell lines provide a relevant model of the patient tumor methylome? *PloS one*. 2014, p. 105545.
2. Bahia H., Ashman J.N., Cawkwell L. et al. Karyotypic variation between independently cultured strains of the cell line MCF-7 identified by multicolour fluorescence in situ hybridization. *Int. J. Oncol.* 2002, No. 20 (3), pp. 489-94.
3. Hollestelle A., Nagel J.H., Smid M., et al. Distinct gene mutation profiles among luminal-type and basal-type breast cancer cell lines. *Breast cancer research and treatment*. 2010. No. 121. pp. 53-64.
4. 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. P. 216.
5. Mnichovich M.V., Midiber K.Yu., Galliamova A.R., et al. Immunohistochemical evaluation of cadherin-catenin complex expression in breast cancer. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2017, No. 6 (1), pp. 63-68 (In Russ).
6. Arutyunyan E.V., Brilliant A.A., Novikova E.A., Sazonov S.V. Some of the expression patterns of immunohistochemical markers on cells of breast carcinoma. *Ural Medical Journal*. 2014, No. 2 (116), pp. 5-8. (In Russ).
7. Brilliant Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Epithelial cadherins and associated molecules with invasive lobular breast cancer. *Archive of pathology*. 2017, No. 1 (79), pp. 12-18. (In Russ).
8. Sazonov S.V., Brilliant A.A., Brilliant Yu.M. Relationship of the state of proliferative processes and features of the receptor apparatus of tumor cells of breast carcinoma. *Genes and cells*. 2017, No. 12 (4), pp. 76-81. (In Russ).
9. Zasadkevich Yu.M., Sazonov S.V. The role of the cell adhesion molecule of E-cadherin in human ontogeny in normal and pathological conditions. *Morphology*. 2014, No. 5 (146), pp. 78-82. (In Russ).
10. Zasadkevich Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. The role of cadherins in normal and with the development of breast cancer. *Archive of pathology*. 2015, No. 3 (77), pp. 57-64. (In Russ).
11. Sazonov S.V., Leontyev S.L., Brilliant A.A. Experience of reference laboratory on HER2 / Neu testing of breast carcinoma in the Sverdlovsk region. *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*. 2013, №1 (43). C.56-60. (In Russ).
12. Frank A., Andreeva Yu.Yu., Vinogradov I.Yu., et al. 10 years of testing of HER2-status in breast cancer in Russia. *Archive of pathology*. 2012. T.74. №5. P. 3-6. (In Russ).
13. Tsuda H., Akiyama F., Terasaki H., et al. Detection of HER-2/neu (c-erb B-2) DNA amplification in primary breast carcinoma. Interobserver reproducibility and correlation with immunohistochemical HER-2 overexpression. *Cancer*. 2001, 92, pp. 2965-74.

Авторы:

Сазонов Сергей Владимирович
Уральский государственный медицинский университет
Заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии
ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий
Заведующий патолого-анатомическим отделением
Доктор медицинских наук, профессор
Российская Федерация, 620137, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а
imct@celltechnologies.ru

Бриллиант Александр Александрович
Институт медицинских клеточных технологий
Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Российская Федерация, 620137, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а
alex_brilliant@mail.ru

Фадеев Федор Алексеевич
Институт медицинских клеточных технологий
Кандидат биологических наук, заведующий лабораторией клеточных культур
Российская Федерация, 620137, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а
imct@celltechnologies.ru

Демидов Сергей Михайлович
Институт медицинских клеточных технологий
Доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник
Российская Федерация, 620137, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а
imct@celltechnologies.ru

Леонтьев Сергей Леопольдович
Институт медицинских клеточных технологий
Доктор медицинских наук, профессор, главный врач института
Российская Федерация, 620137, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а
imct@celltechnologies.ru

Authors:

Sergey V. Sazonov
Dr. Sci. (Med.), Professor
Head of Department
Department of Histology, Cytology and Embryology,
Ural State Medical University
Head of Laboratory, Department Pathologist
Institute of Medical Cell Technologies
Vilonova str. 76a, Yekaterinburg, Russian Federation,
620137
imct@celltechnologies.ru

Aleksandr A. Brilliant
Institute of Medical Cell Technologies
Cand. Sci. (Bio), Senior Researcher
Vilonova str. 76a, Yekaterinburg, Russian Federation
620137
alex_brilliant@mail.ru

Feodor A. Fadeev
Cand. Sci. (Bio), Head of Cell Culture Laboratory
Institute of Medical Cell Technologies
Vilonova str. 76a, Yekaterinburg, Russian Federation,
620137
imct@celltechnologies.ru

Sergey M. Demidov
Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher
Institute of Medical Cell Technologies
Vilonova str. 76a, Yekaterinburg, Russian Federation,
620137
imct@celltechnologies.ru

Sergey L. Leontyev
Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Institute
Institute of Medical Cell Technologies
Vilonova str. 76a, Yekaterinburg, Russian Federation,
620137
imct@celltechnologies.ru