

УДК:616-006.699

*А.С. Могиленских<sup>1,2</sup>, Е.В. Гребенюк<sup>1,2</sup>, С.В. Сазонов<sup>1,2</sup>, Е.О. Шамшурина<sup>1</sup>,  
К.В. Конышев<sup>1,2</sup>, С.М. Демидов<sup>1,2</sup>*

## ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИЗ ОПУХОЛИ ЛЮМИНАЛЬНОГО В ПОДТИПА

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет»,  
г. Екатеринбург, Российская Федерация;  
<sup>2</sup> ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Резюме.** В работе описан случай получения первичной культуры карциномы молочной железы из клеток опухоли люминального В подтипа, HER-2-негативного. **Цель исследования.** Оценить морфологию клеток и изменения в рецепторном аппарате при получении первичной клеточной культуры и дальнейшем поддержании ее в ходе пяти пассажей. **Методы.** В работе описан случай получения первичной культуры РМЖ. Был определен уровень экспрессии к следующим маркерам: панцитокератину, виментину, уровню пролиферативной активности Ki-67. **Результаты.** Приведены данные о полиморфизме клеток в культуре, выделено четыре группы клеток: небольшие округлой формы (6-8 мкм), треугольные клетки, веретеновидные клетки (размерами 10-15 мкм), крупные клетки (около 20-30 мкм). Наши результаты показали, что в полученной клеточной культуре при пересевах присутствуют как клетки эпителиального фенотипа, так и мезенхимального фенотипа. Уровень пролиферативной активности Ki-67 и наличие клеток с высоким уровнем виментина, показывает возможность эпителиально-мезенхимального перехода. **Заключение.** Это свидетельствует о необходимости контроля количества фибробластоподобных клеток при пересевах первичной культуры для создания в дальнейшем релевантной модели при исследованиях рака молочной железы.

**Ключевые слова:** первичная клеточная культура, карцинома молочной железы, молекулярно-биологические подтипы карциномы молочной железы

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Сазонов Сергей Владимирович

prof-ssazonov@yandex.ru

Дата поступления 17.02.2022 г.

Образец цитирования:

Могиленских А.С., Гребенюк Е.В., Сазонов С.В., Шамшурина Е.О., Конышев К.В., Демидов С.М. Опыт получения клеточной культуры рака молочной железы из опухоли люминального В подтипа. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2022, Том 19, №1, с. 4–13, DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-1-4-13

### Введение

Высокий процент заболеваемости раком молочной железы (РМЖ) служит стимулом для поиска новых персонализированных методов лечения, углубления знаний о процессах канцерогенеза, механизмах метастазирования. Пятьдесят лет назад, с появлением первой клеточной линии – Нела, стало понятно, что такие линии легко воспроизводимы и просты в постановке экспериментов для исследований [1]. Появилось большое количество иммортализованных клеточных линий РМЖ, обладающих различными молекулярно-биологическими подтипами [2]. Однако в дальнейшем стало известно, что в ходе многочисленных пассажей данные линии не только теряют изначальный фенотип опухоли, но и могут быть перекрестно контаминированы клетками других культур [3]. Это

становится особенно актуальным при изучении РМЖ, поскольку это гетерогенное заболевание, которое включает в себя более 20 различных подтипов с вероятностью мутаций в 93 генах [4]. В последнее время вектор внимания переключился на получение первичной культуры клеток, которая сохраняет микроокружение опухоли пациента и более пригодна для индивидуального подхода к подбору лекарственной терапии. При этом лишь в небольшом количестве исследований описаны изменения, которые происходят в фенотипе первичной культуры, а также в ее рецепторном аппарате при первых пассажах [5-7].

В клинической практике и для характеристики клеточных линий выделяют пять молекулярно-биологических подтипов РМЖ: люминал А, люминал В, люминал В (HER2+), HER2-гиперэкспрессированный, тройной негативный [8-9]. Было доказано, что основные модификации в генетическом материале происходят внутри данных подтипов, а не между ними.

В нашей работе мы хотим описать случай получения первичной культуры, ее морфологические характеристики и данные по некоторым рецепторам в ходе пяти пассажей.

**Цель исследования** — оценить морфологию клеток и изменения в рецепторном аппарате при получении первичной клеточной культуры и дальнейшем поддержании ее в ходе пяти пассажей.

### Материалы и методы

В работе описан случай получения первичной культуры РМЖ. Материал был получен в ходе хирургического вмешательства у пациентки с диагнозом рак молочной железы слева, 59 л., стадия T1N0M. Из части материала были изготовлены парафиновые блоки для иммуногистохимической оценки опухоли. Иммуногистохимические реакции осуществлялись в автостейнере ДАКО, Дания. Определение экспрессии HER-2/neu на клетках опухоли осуществлялось с помощью моноклональных антител к Her2/neu (clone 4B5, Rabbit Monoclonal primary Antibody, Ventana, США), рецепторов эстрогена и прогестерона на ядрах клеток опухоли — с помощью моноклональных антител к рецепторам эстрогенов (клон 1D5, ДАКО, Дания), рецепторам прогестерона (клон PgR636, ДАКО, Дания). Для опеределения индекса клеточной пролиферации использовались антитела Ki-67 (Clone SP6, Spring Bioscience, США). Ядра клеток докрашивали гематоксилином.

Другую часть материала доставляли в лабораторию клеточных культур в стерильных условиях в растворе Хэнкса с 5% гентамицина. Образцы измельчали, далее гомогенную массу помещали в среду для диссоциации (ферменты коллагеназа — гиалуронидаза, DMEM- F12) и инкубировали около 15-16 часов в отсутствие CO<sub>2</sub> на шейкере. Полученную взвесь центрифугировали при 0,7 RPM (30 сек), супернатант сливали, а осадок ресуспендировали с трипсином. Далее растворяли в HF (раствор Хэнкса с 10% FBS) и центрифугировали при 1,4 RPM (5 мин). Супернатант сливали, а полученный осадок растворяли в диспазе и ДНКазе, вновь центрифугировали, после чего разводили клеточный осадок в питательной среде Mammocult™ Human Medium (STEMCELL) и помещали в культуральные флаконы. Для пересева клеточную культуру диссоциировали в трипсине, часть осадка распределяли на предметные стекла, покрытые коллагеном и помещенные в чашки Петри, культивировали 1-2 дня для проведения иммуноцитохимического исследования. Далее стекла высушивали, фиксировали в 10% нейтральном формальдегиде в течение 2-3 часов, затем стекла промывали фосфатным буфером, выполняли проводку по ксилолам и спиртам. При определении принадлежности клеток к эпителиоцитам с использованием антитела anti-Pan Keratin (AE1/AE3/PCK26) Primary Antibody (Roche diagnostics, USA) проводили демаскировку с помощью 0,01% раствора Тритон X-100 (10 минут), трипсином (10 минут), для блокирования неспецифического связывания антител клетки инкубировали в 1% растворе эмбриональной бычьей сыворотки. Для определения ядерного индекса пролиферации опухоли использовались кроличьи моноклональные античеловеческие антитела KI-67 Antigen (Clone SP6, Spring Bioscience, США), определения экспрессии виментина (мышинные моноклональные анти-свиные антитела Vimentin (Clone V9, ДАКО, Дания) демаскировку проводили в цитратном буфере на водяной бане в течении 90 минут.

Подсчет количества клеток осуществлялся в автоматическом счетчике TC20, контроль за ростом культуры проводился с помощью микроскопа Eclipse TS100, Nikon, определение подтипа осуществлялось с помощью микроскопа Meiji Techno MT4200L.

## Результаты и обсуждение

По итогам иммуногистохимического исследования материала была выявлена экспрессия рецепторов эстрогена — 8 баллов, прогестерона — 8 баллов, индекс клеточной пролиферации Ki67 составил 20%. Определяли по шкале Allred от 0 до 8 баллов, учитывающей одновременно количество окрашенных ядер опухолевых клеток и интенсивность их окраски, уровень пролиферации клеток опухоли по экспрессии Ki-67 рассчитывали по процентному отношению числа окрашенных ядер опухолевых клеток ко всем клеткам (%) [10]. Экспрессия к HER-2/neu отсутствует. Данный случай рака молочной железы относится к люминальному В подтипу, HER-2- негативному (рис. 1).

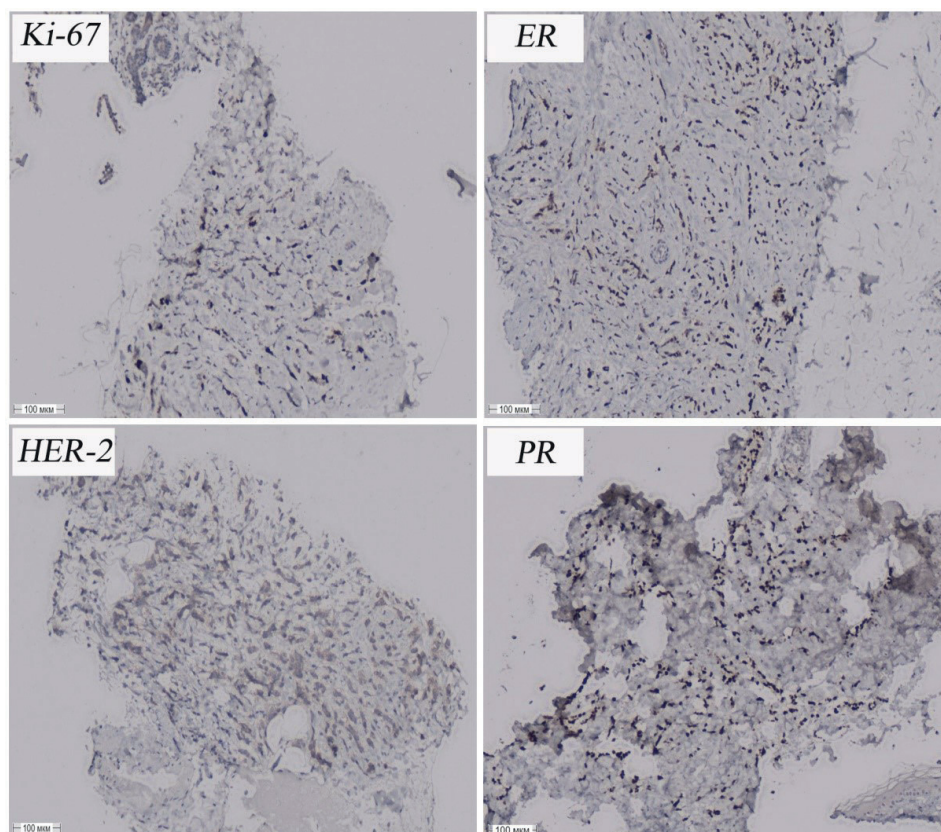


Рис. 1. Первичный материал РМЖ. Иммуногистохимическое исследование использованием антител к ER, PR, HER2 и Ki67. Ув.  $\times 100$ , световая микроскопия

Fig. 1. Primary breast cancer material. Immunohistochemical study using antibodies to ER, PR, HER2 and Ki67.  $\times 100$ , light microscopy

При наблюдении за ростом первичной культуры через неделю были отмечены прикрепившиеся клетки и крупные сфероидные образования. Среди клеток культуры был выражен полиморфизм. Большинство клеток обладали небольшой, округлой формой, диаметром 6-8 мкм. Данные клетки имели ядро, занимавшее большую часть цитоплазмы. Часть из этих клеток прикреплялась к флакону и имела в таком случае от трех до пяти небольших цитоплазматических выступов, похожих на «шипики». Другая часть мелких клеток не проявляла адгезивных свойств в первые 7 дней и формировала крупные сферы с плотным, темным центром (маммосферы). Вторая группа клеток по форме приближалась к треугольнику. Третья группа клеток имела форму вытянутой капли, от узкого края которой отходили тонкие отростки к другим клеткам (веретеновидные клетки).

Треугольные и веретеновидные клетки имели средние размеры 10-15 мкм. И, наконец, четвертая группа клеток имела крупные размеры (около 20-30 мкм), сильно васкуляризованную цитоплазму, иногда два ядра. После достижения маммосферами размеров около 50 мкм от края сферы отделялись клетки с веретеновидными отростками, к которым затем присоединялись клетки треугольной и округлой формы.

Рост первичной культуры до монослоя продолжался около 20 дней (рис. 2).

После этого первичную культуру клеток пересаживали, часть клеток помещали на предметные стекла для проведения иммуноцитохимического анализа.

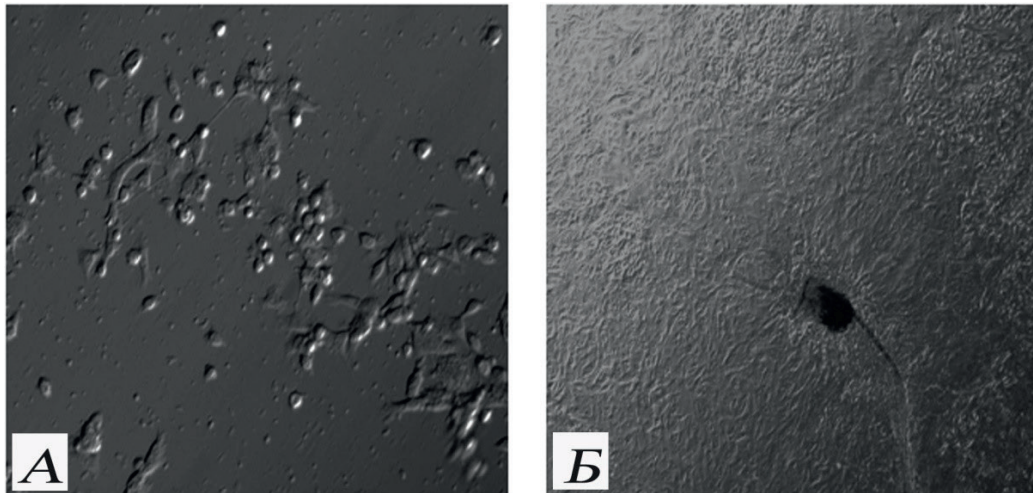


Рис. 2. Разные типы клеток и формирование монослоя при получении первичной клеточной культуры. А — 7 день, ув.200, Б — 20 день, монослой и маммосфера

Fig. 2. Different types of cells and the formation of a monolayer when receiving a primary cell culture. А — 7 day, uv.200, В — 20 day, monolayer and mammosphere

При определении размеров клеток было отмечено, что средний диаметр клеток находится в диапазоне от 6-12 мкм, наибольший средний размер на втором и четвертом пассаже, наименьший — на нулевом и пятом. Самые большие клетки обнаружены на первом пассаже (рис. 3).

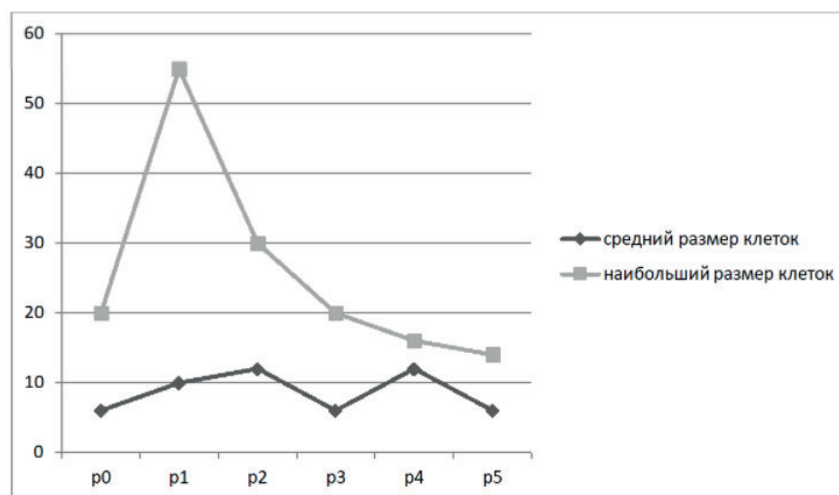


Рис. 3. Изменение размера клеток с первого по пятый пассаж  
Fig. 3. Changing the size of cells from the first to the fifth passage

При получении клеточной линии из первичной культуры клеток высока вероятность размножения фибробластов, поскольку в первичном материале содержатся не только компоненты эпителиальной природы, но и элементы стромы, что следует учитывать при исследованиях [11]. Более того, возможно проявление эпителиально-мезенхимального перехода, который происходит как в ткани опухоли, так и в культуре клеток, полученной из этой ткани [12-14]. В полученной нами культуре большинство клеток демонстрируют эпителиальный фенотип, кроме гигантских клеток (четвертая группа). На четвертом и пятом пассажах отмечается увеличение количества крупных клеток мезенхимальной природы (рис. 4). Для определения фенотипа этих клеток на четвертом и пятом пассаже определили экспрессию Виментина. По полученным нами данным, экспрессия данного маркера характерна для клеток, не экспрессирующих панцитокератин. Однако часть клеток содержит оба рецептора. Данный феномен объясняется в работе Ye X. (2015) тем, что эпителиально-мезенхимальный переход нельзя воспринимать как полный переход от одной клеточной природы к другой, и в новой «мезенхимальной клетке» остаются ключевые эпителиальные маркеры. Тем не менее, приобретение даже небольшого числа мезенхимальных свойств значительно меняет биологию клетки [15].

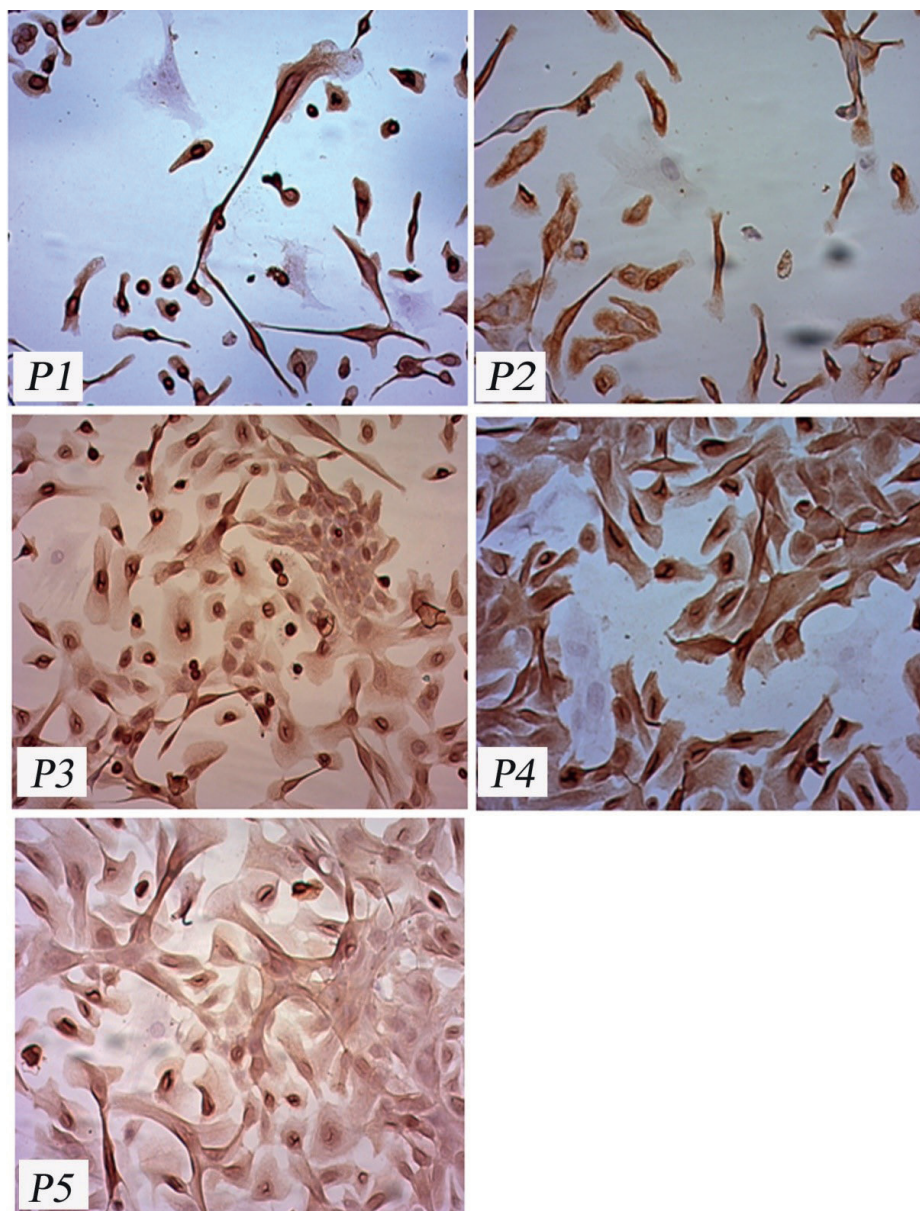


Рис. 4. Культура клеток РМЖ, экспрессия панцитокератина на клетках, световая микроскопия, ув.  $\times 200$

Fig. 4. BC cell culture, pancytokeratin expression on cells, light microscopy,  $\times 200$

Уровень пролиферативной активности опухолевых клеток определялся путем подсчета индекса Ki67 и составлял на втором пассаже 30%, на четвертом пассаже 10%, на пятом пассаже 30%, что отличается от уровня Ki-67 в первичном материале — 20% (рис. 5). Важно подчеркнуть, индекс Ki67 — это необходимое условие современной морфологической диагностики, которое служит базой для дальнейшей клинической оценки агрессивности течения заболевания и обоснованного назначения соответствующих режимов лекарственного лечения [16]. Данный маркер также используется при определении влияния чувствительности клеток к препаратам при проведении исследований *in vitro* [17]. В работе Нуштаевой А.А. описано, что прохождение клетками эпителиально-мезенхимального перехода приводит к увеличению данного индекса, что отражает повышенную пролиферативную активность эпителиальных опухолевых клеток. Таким образом, мезенхимальный и эпителиальный фенотип клеток опухоли несет различную функциональную нагрузку: эпителиальные клетки обеспечивают высокий уровень пролиферации, а мезенхимальные — подвижность и инвазию [18]. Наличие клеток без экспрессии панцитокератина и при этом увеличение Ki-67 может свидетельствовать о начале эпителиально-мезенхимального перехода на втором пассаже.

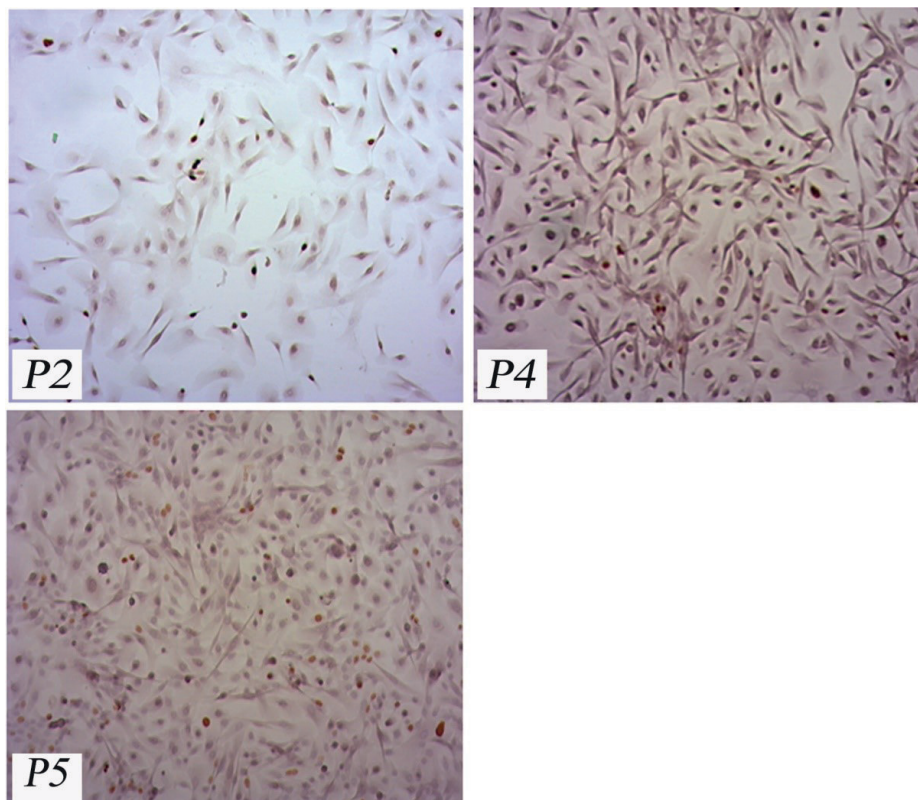


Рис. 5. Культура клеток РМЖ, иммуноцитохимическое исследование уровня пролиферативной активности с помощью индекса Ki-67, p2 30%, p4 10%, p5 30%, световая микроскопия, ув.  $\times 100$

Fig. 5. BC cell culture, immunocytochemical study of the level of proliferative activity using the Ki-67 index, p2 30%, p4 10%, p5 30%, light microscopy,  $\times 100$

### Выводы

При получении и культивировании в течение пяти пассажей культуры клеток, полученных от образца опухоли люминального В подтипа, выявлена морфологическая гетерогенность. Обнаружено, что в полученной клеточной культуре присутствуют клетки как эпителиального, так и мезенхимального фенотипов. Уровень пролиферативной активности Ki-67 и наличие клеток с высоким уровнем виментина, показывает возможность развития эпителиально-мезенхимального перехода.

Обнаружено, что увеличение размера культивируемых клеток может сопровождаться изменением экспрессии промежуточных филаментов в их цитоплазме. Наличие в культуре линий клеток с разным фенотипом определяет необходимость контроля за пролиферацией фибробластоподобных клеток при пересевах первичной культуры для создания в дальнейшем релевантной модели.

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Gey G.O., Coffman W.D., Kubicek M.T. Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Res.* 1952; 12: 264-65.
2. Ali R., Samman N., Al Zahrani H., Nehdi A., Rahman S., Khan A.L. et al. Isolation and characterization of a new naturally immortalized human breast carcinoma cell line, KAIMRC1. *BMC Cancer.* 2017; 17(1):803. DOI: 10.1186/s12885-017-3812-5.
3. Gillet J.P., Wang J., Calcagno A.M., Green L.J., Varma S., Bunkholt Elstrand M., et al. Clinical relevance of multidrug resistance gene expression in ovarian serous carcinoma effusions. *Mol Pharm.* 2011; 8(6): 2080- 88.
4. Nik-Zainal S., Davies H., Staaf J., Ramakrishna M., Glodzik D., Zou X., et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences. *Nature.* 2016; 534(7605): 47-54.
5. Minafra L., Norata R., Bravatà V., Viola M., Lupo C., et al. Unmasking epithelial-mesenchymal transition in a breast cancer primary culture: a study report. *BMC Res Notes.* 2012; 5: 343.
6. Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Фадеев Ф.А., Демидов С.М.. Первый опыт культивирования клеток рака молочной железы, Вестник Уральской медицинской академической науки. 2018; 15(6): 860-7.
7. Drews-Elger K., Brinkman J.A., Miller P., Shah S.H., Harrell J.C., da Silva T.G., et al. Primary breast

tumor-derived cellular models: characterization of tumorigenic, metastatic, and cancer-associated fibroblasts in dissociated tumor (DT) cultures. *Breast Cancer Res. Treat.* 2014; 144(3): 503-17.

8. Сазонов С.В. Обеспечение качества молекулярно-биологических исследований при диагностике рака молочной железы. Екатеринбург, Россия: ВУМАН; 2018.

9. Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B., van de Rijn M., Jeffrey S.S., Rees C.A., et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000; 406(6797): 747-52..

10. Allred D.C., Harvey J.M., Berardo M., Clark G.M.. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998 ;11(2):155- 68.

11. Богущи Т.А., Калюжный С.А., Четыркина М.Р., Ястребова М.А., Щербаков А.М., Мамичев И.А., и др. Экспрессия виментина в культурах клеток эпителиальных опухолей человека. *Успехи молекулярной онкологии.* 2018; 5(2):24-30.

12. Nishikata T., Ishikawa M., Matsuyama T. Takamatsu K, Fukuhara T, Konishi Y. Primary culture of breast cancer: a model system for epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells. *Anticancer Res.* 2013; 33(7): 2867-73.

13. Сазонов С.В., Кобышев 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 Уральского государственного университета.* 2016; 2(57): 53-63

14. Brilliant A.A., Brilliant Yu.M., 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.

15. Ye X., Weinberg R.A.. Epithelial-Mesenchymal Plasticity: A Central Regulator of Cancer Progression. *Trends Cell Biol.* 2015 Nov; 25(11): 675-86. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.012

16. 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):7 6-81.

17. Bläuer M., Heinonen P.K., Rovio P., Ylikomi T.. Effects of tamoxifen and raloxifene on normal human endometrial cells in an organotypic in vitro model. *Eur J Pharmacol.* ;592 (1-3):13-18. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.06.091.

18. Нуштаева А.А. Культуры онкотрансформированных клеток молочной железы и эндометрия для изучения опухолевой прогрессии и разработки терапевтических подходов: дисс.. Новосибирск: Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН; 2019

#### Авторы

Могиленских Анна Сергеевна

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет

Аспирант 3 года обучения, специальность «Патологическая физиология»

Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Научный сотрудник

Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22

annasajler@yandex.ru

Гребенюк Екатерина Владимировна

Уральский государственный медицинский университет

Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

Аспирант 2-го года обучения, специальность «Патологическая физиология» ФГБОУ ВО ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22

Научный сотрудник

ev.grebenyuk9@yandex.ru

Сазонов Сергей Владимирович

Уральский государственный медицинский университет

Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3  
Заведующий кафедрой гистологии УГМУ  
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»  
Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22  
Заместитель главного врача по науке ИМКТ  
Доктор медицинских наук, профессор  
prof-ssazonov@yandex.ru

Шамшурина Елена Олеговна  
Уральский государственный медицинский университет  
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3  
Доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УГМУ, кандидат медицинских наук  
elshamshurina@gmail.com

Коньшев Константин Вячеславович  
Уральский государственный медицинский университет  
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3  
Доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УГМУ  
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»  
Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22  
Врач-патологоанатом ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»  
Кандидат медицинских наук, доцент  
kon-konyshev@yandex.ru

Демидов Сергей Михайлович  
Уральский государственный медицинский университет  
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3  
Заведующий кафедрой онкологии и лучевой диагностики УГМУ, доктор медицинских наук, профессор  
professordemidov@mail.ru

*A.S. Mogilenskikh<sup>1,2</sup>, E.V. Grebenyuk<sup>1,2</sup>, S.V. Sazonov<sup>1,2</sup>,  
E.O. Shamshurina<sup>1</sup>, K.V. Konyshev<sup>1,2</sup>, S.M. Demidov<sup>1,2</sup>*

## THE EXPERIENCE OF OBTAINING A CELL CULTURE OF BREAST CARCINOMA FROM A TUMOR LUMINAL B SUBTYPE

<sup>1</sup> Ural state medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;  
<sup>2</sup> Institute for medical cell technologies, Yekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** The paper describes a case of obtaining a primary culture of breast carcinoma from tumor cells of the luminal B subtype. *The aim of the study.* Assess the cell morphology and changes in the receptor apparatus when obtaining a primary cell culture and further maintaining it during five passages

*Methodology.* The paper describes the case of obtaining a primary culture of breast cancer. The level of expression for the following markers was determined: pancytokeratin, vimentin, the level of proliferative activity of Ki-67. *Results.* The data on the polyformism of cells in culture are presented, the levels of cell proliferation are estimated, the epithelial nature of the cells is determined during five passages.

At the fourth passage, signs of an epithelial-mesenchymal transition were noted. The level of Ki-67 proliferative activity differed at different passages and was higher or lower than the initially established level in the primary material. The study of the primary culture and the first passages of the cell line is important for creating a further relevant model for the tumor *in vivo*. *Conclusion.* It is necessary that such a model be as close as possible in terms of cellular composition and receptor apparatus to the primary tumor.



**Keywords:** primary cell culture, breast carcinoma, molecular biological subtypes of breast carcinoma

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Sergey V. Sazonov

prof-ssazonov@yandex.ru

Received 13.02.2021

For citation:

Mogilenskikh A.S., Grebenyuk E.V., Sazonov S.V., Demidov S.M., Shamshurina E.O., Konyshov K.V. The experience of obtaining a cell culture of breast carcinoma from a tumor luminal B subtype. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2022, Vol. 19, no. 1, pp. 4–13. DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-1-4-13 (In Russ)

## REFERENCES

1. Gey G.O., Coffman W.D., Kubicek M.T. Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Res.* 1952; 12: 264-65.
2. Ali R., Samman N., Al Zahrani H., Nehdi A., Rahman S., Khan A.L. et al. Isolation and characterization of a new naturally immortalized human breast carcinoma cell line, KAIMRC1. *BMC Cancer.* 2017; 17(1):803. DOI: 10.1186/s12885-017-3812-5.
3. Gillet J.P., Wang J., Calcagno A.M., Green L.J., Varma S., Bunkholt Elstrand M., et al. Clinical relevance of multidrug resistance gene expression in ovarian serous carcinoma effusions. *Mol Pharm.* 2011; 8(6): 2080-88.
4. Nik-Zainal S., Davies H., Staaf J., Ramakrishna M., Glodzik D., Zou X., et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences. *Nature.* 2016; 534(7605): 47-54.
5. Minafra L., Norata R., Bravatà V., Viola M., Lupo C., et al. Unmasking epithelial-mesenchymal transition in a breast cancer primary culture: a study report. *BMC Res Notes.* 2012; 5: 343.
6. Sazonov S.V., Brilliant A.A., Fadeev F.A., Demidov S.M. The first experience in the cultivation of breast cancer cells, *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki.* 2018; 15(6): 860-867, (in Russian).
7. Drews-Elger K., Brinkman J.A., Miller P., Shah S.H., Harrell J.C., da Silva T.G., et al. Primary breast tumor-derived cellular models: characterization of tumorigenic, metastatic, and cancer-associated fibroblasts in dissociated tumor (DT) cultures. *Breast Cancer Res. Treat.* 2014; 144(3): 503-17.
8. Sazonov S.V. Quality assurance of molecular biological research in the diagnosis of breast cancer. Yekaterinburg, Russia: VUMAN; 2018, (in Russian).
9. Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B., van de Rijn M., Jeffrey S.S., Rees C.A., et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000; 406(6797): 747-52.
10. Allred D.C., Harvey J.M., Berardo M., Clark G.M.. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998 ;11(2):155-68.
11. Bogushi T.A., Kalyuzhnyy S.A., Chetyrkina M.R., Yastrebova M.A., Shcherbakov A.M., Mamichev I.A., Kamenskiy A.A. Expression of vimentin in human epithelial tumor cell cultures. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii.* 2018; 5(2):24-30.
12. Nishikata T., Ishikawa M., Matsuyama T. Takamatsu K, Fukuhara T, Konishi Y. Primary culture of breast cancer: a model system for epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells. *Anticancer Res.* 2013; 33(7): 2867-73.
13. Sazonov S.V., Konyshov K.V., Kazantseva N.V., Tokareva M.V., Brilliant Yu.M.. Histological and immunohistochemical manifestations of the epithelio-mesenchymal transition in triple negative breast cancer. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki.* 2016; 2(57): 53-63, (in Russian).
14. Brilliant A.A., Brilliant Yu.M., 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, (in Russian).
15. Ye X., Weinberg R.A.. Epithelial-Mesenchymal Plasticity: A Central Regulator of Cancer Progression. *Trends Cell Biol.* 2015 Nov; 25(11): 675-86. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.012
16. Sazonov S.V., Brilliant A.A., Brilliant Yu.M. Relationship between the state of proliferative processes and the characteristics of the receptor apparatus of breast carcinoma tumor cells. *Geny and Cells.* 2017; 12(4): 76-81, (in Russian).

17. Bläuer M., Heinonen P.K., Rovio P., Ylikomi T.. Effects of tamoxifen and raloxifene on normal human endometrial cells in an organotypic in vitro model. *Eur J Pharmacol.* ;592 (1-3):13-18. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.06.091.

18. Nushtaeva A.A. Cultures of oncotransformed cells of the mammary gland and endometrium for the study of tumor progression and the development of therapeutic approaches: diss. Novosibirsk: Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine S.B. RAS; 2019, (in Russian).

#### Authors

Anna S. Mogilenskikh

Ural State Medical University

Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, st. Repin, 3

Postgraduate student of the 3rd year of study, specialty Pathological Physiology

Institute of Medical Cell Technologies

Russian Federation, 620026, Yekaterinburg, st. Karl Marx, 22a

Researcher

annasajler@yandex.ru

Ekaterina V. Grebenyuk

Ural State Medical University

Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, st. Repin, 3

Postgraduate student of the 2nd year of study, specialty Pathological Physiology

Researcher

ev.grebenyuk9@yandex.ru

Sergey V. Sazonov

Ural State Medical University

Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, st. Repin, 3

Head of the Department of Histology, Doctor of Medical Sciences, Professor

Institute of Medical Cell Technologies

Russian Federation, 620026, Yekaterinburg, st. Karl Marx, 22a

Deputy Chief Physician for Science

prof-ssazonov@yandex.ru

Elena O. Shamshurina

Ural State Medical University

Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, st. Repin, 3

Associate Professor of the Department of Histology, Candidate of Medical Sciences

elshamshurina@gmail.com

Konstantin Vy. Konyshv

Ural State Medical University

Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, st. Repin, 3

Pathologist, candidate of medical sciences

kon-konyshv@yandex.ru

Sergei M. Demidov

Ural State Medical University

Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, st. Repin, 3

Head of the Department of Oncology and Radiation Diagnostics, Doctor of Medical Sciences, Professor,  
Leading Researcher

professordemidov@mail.ru