

И.В. Василенко, Б.Б. Брук, Ю.К. Гульков, Р.Б. Кондратюк, Н.В. Запорожченко, Е.В. Щукина

## Эпителиально-мезенхимальная и другие трансформации в норме и патологии (обзор литературы и собственные исследования)

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

**Ключевые слова:** эпителиально-мезенхимальная трансформация.

Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) является сложным многоступенчатым процессом, контролируемым многими генами различных сигнальных путей, решающим значением в развитии которого является активация факторов транскрипции, возникающая под действием сигналов из микроокружения или даже внешней среды. Процесс может быть обратимым, либо поддерживаться в течение всей жизни организма. В эмбриогенезе и развитии организма он играет ключевую роль в процессе гаструляции, формирования мезенхимы и поддержания фенотипа мезенхимальных клеток; в образовании нервной системы, как центральной, так и периферической, включая парные органы чувств, нейроэндокринную систему; в органогенезе; в образовании и поддержании стволовых клеток, асимметричности их деления; в асимметрии формирования организма. ЭМТ играет важную роль в процессах регенерации в частности в заживлении ран, инфаркта миокарда, течении хронического воспаления, однако длительное поддержание этого процесса, иногда необратимость его ведет к избыточному образованию фиброзной ткани, возможно ремоделирование органа с различным влиянием его на функцию органа. В опухолях ЭМТ лежит в основе прогрессии, важнейшие этапы ее – изменение клеточно-клеточной и клеточно-матриксной адгезии, приобретение способности к движению, миграции клеток, угнетение апоптоза и увеличение выживаемости клеток, иногда симметричное деление опухолевых стволовых клеток создают предпосылки для усиленной инвазии и метастазирования опухолей, агрессивности течения их, устойчивости к терапии, плохому прогнозу.

### Епітеліально-мезенхімальна і інші трансформації в нормі та патології

*І.В. Василенко, Б.Б. Брук, Ю.К. Гульков, Р.Б. Кондратюк, М.В. Запорожченко, О.В. Щукіна*

Епітеліально-мезенхімальна трансформація (ЕМТ) є складним, багатоступінчастим процесом, що контролюється багатьма генами різних сигнальних шляхів. В розвитку цього процесу найважливішим є активація факторів транскрипції, що виникає під впливом сигналів зі строми або навіть зовнішнього середовища. Процес може бути зворотнім або зберігатися на протязі всього життя організму. В ембріогенезі та розвитку організму він грає вирішальну роль в процесі гаструляції, формування мезенхіми та підтримки фенотипу мезенхімальних клітин, у формуванні нервової системи, як центральної, так і периферійної, органів чуття, нейроендокринної системи; в органогенезі; у виникненні та підтримці стовбурових клітин, асиметрії їх поділу; в асиметрії формування організму. ЕМТ грає важливу роль у процесах регенерації, серед них у загоюванні ран, інфаркту міокарда; перебігу хронічного запалення в різних органах; іноді виникненню надмірного фіброзу, ремоделюванню органів з різним впливом його на функцію. В пухлинах ЕМТ обумовлює прогресію, основні ознаки ЕМТ – порушення клітинно-клітинної та клітинно-матриксної адгезії, надбання здатності до міграції клітин, пригнічення апоптозу та збільшення життєздатності, симетричне поділення стовбурових клітин обумовлюють посилення інвазивності і метастазування пухлин, їх агресивності, нечутливості до терапії і несприятливий прогноз.

**Ключові слова:** епітеліально-мезенхімальна трансформація.

**Патологія.** – 2009. – Т.6., №2. – С. 4-10

### Epithelial-mesenchymal and other transformations in norm and pathology

*I.V.Vasilenko, B.B.Bruk, Yu.K.Gulkov, R.B.Kondratyuk, N.V.Zaporozhchenko, E.V.Shchukina*

The epithelio-mesenchymal transformation (EMT) is a very complicated multistep process controlled by a plenty of factors which belong to different signal pathways. The most significant role is played by transcription factors activated by internal or external signals. This process may be either reversible or lifelong. During embriogenesis and subsequent development of the organism, the EMT is the key factor in the gastrulation, formation of the mesenchima and continuous support of mesenchimal cells phenotype; genesis of the all parts of the nervous system, including paired sensory organs and neuroendocrine system as well as stem cells development, support, asymmetrical division and asymmetrical organ formation in the organogenesis. The EMT plays important role in the variety of the regeneration processes including wound healing, post myocardial infarction scarring and chronic inflammation. However, this process may be long and persistent leading to the excessive fibrosis and remodeling of the organ with eventual compromise of its function. In the oncogenesis, the EMT is the basis for malignant progression due to decreasing of the cell-to-cell and cell-to-matrix adhesion, induction of the cellular motility and migration, inhibition of apoptosis and, as a result, prolongation of cancer cells lifespan as well as promoting symmetrical division of the malignant cells. All together, it provides the conditions for increased invasiveness, metastatic spread, aggressive course and, clinically, chemotherapy resistance and poor prognosis.

**Key words:** Epithelial-mesenchymal transformation.

**Pathologia.** 2009; 6(2): 4-10

Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) – частое событие в эмбриогенезе, а также при различных патологических процессах, включая формирование склероза, прогрессию и метастазирова-

ние опухолей. ЭМТ – это сложный и упорядоченный процесс, складывающийся из нарушения клеточно-клеточной и клеточно-матриксной адгезии эпителиальных клеток для освобождения их от связи друг с другом

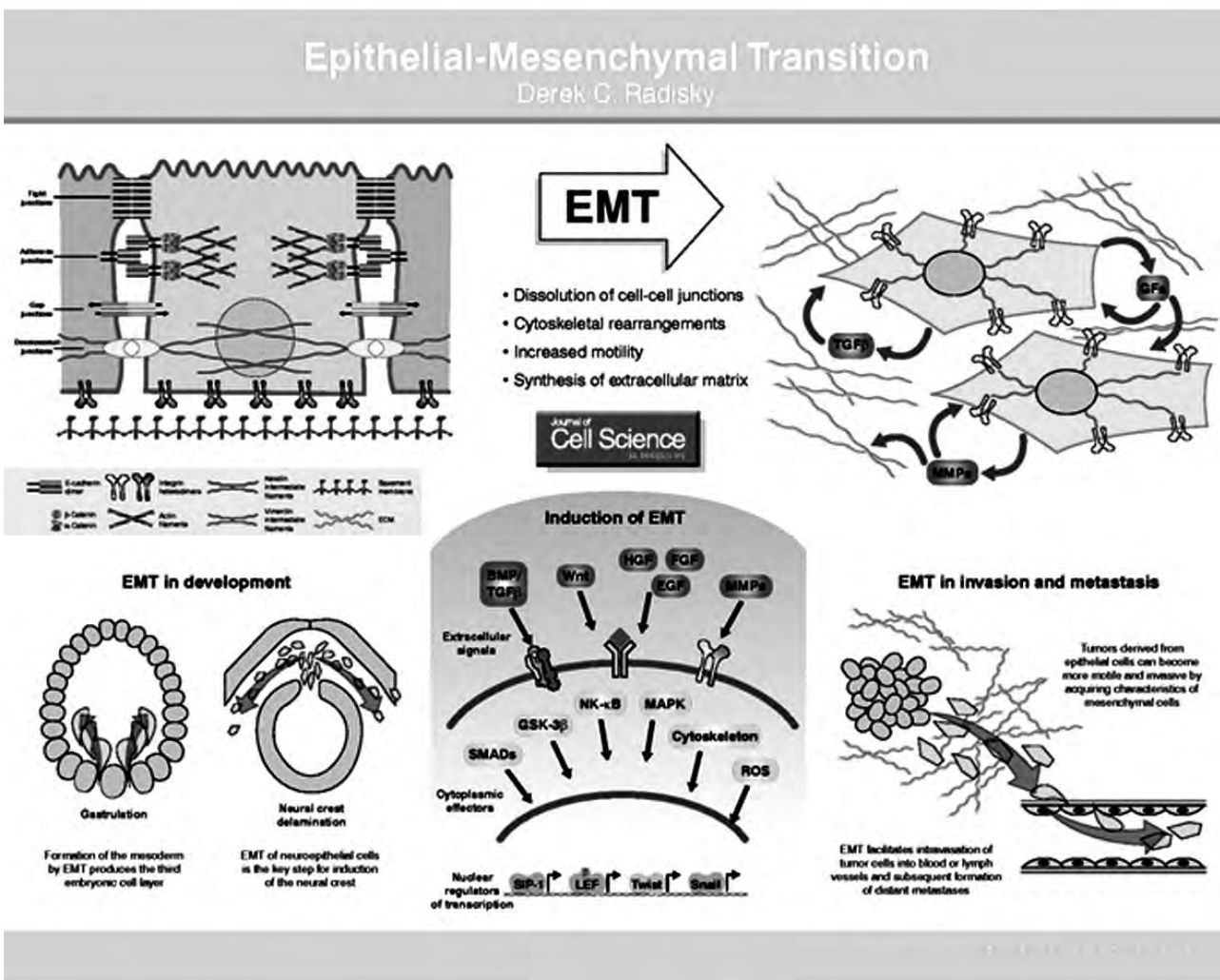
и потери ими полярности (существенного свойства эпителиальной ткани), реорганизации цитоскелета и приобретения фибробластоподобной формы клетками, чтобы дать способность к движению, ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса и поддержание мезенхимального фенотипа [22, 23, 28].

В основе этих многочисленных событий лежит изменение программы транскрипции с вовлечением многих сигнальных путей на различных уровнях их регуляции, начиная от экстрацеллюлярных сигналов, влияющих на цитоплазматические эффекторы, а затем ядерных регуляторов транскрипции, как это представлено на схеме эпителиально-мезенхимального перехода по D.C. Radisky [28].

Среди экстрацеллюлярных сигналов называют трансформирующий фактор роста бета (TGF $\beta$ ), костный морфогенетический протеин (BMP), гепатоцитарный фактор роста (HGF), факторы роста фибробластов (FGF), эпидермальный фактор роста (EGF), матриксные металлопротеиназы (MMP), расщепляющие экстрацеллюлярный матрикс (коллаген и другие). Например,

TGF $\beta$  связывается с рецептором на поверхности клеток SMAD белка в цитоплазме, происходит активация и ядерная транслокация SMAD, что ведет к активации ЭМТ. В других случаях более плейотропные сигналы, как воздействие реактивного кислорода (ROS), могут действовать многими сигнальными путями, а также прямо индуцировать ЭМТ [20], индукторы ЭМТ могут прямо изменять структуру цитоскелета и вести к разрыву клеточно-клеточных и клеточно-матриксных взаимодействий.

Важнейший компонент ЭМТ – вовлечение ключевых факторов транскрипции [24]. Активация ядерных регуляторов транскрипции, в свою очередь воздействует (угнетая одни и усиливая другие) на многие сигнальные пути: пролиферации и выживания клеток, изменения цитоскелета (клеточной формы, подвижности и инвазии), маркеров эпителиального и мезенхимального фенотипа, асимметрии деления стволовых клеток, асимметрии тела человека и другие [24, 28, 34]. Многие гены, участвующие в ЭМТ обуславливают все эти многообразные процессы, могут активировать факторы транскрипции,



образуется обратная петля, поддерживающая это состояние [28]. Однако, возможна обратимость этого процесса, так называемая мезенхимально-эпителиальная трансформация при изменении клеточного микроокружения [28, 39], или путем блокирования экстрацеллюлярных сигналов, цитоплазматических эффекторов ингибиторами [1].

С ЭМТ связаны 45 генов, регуляторами транскрипции являются 18 генов [19], это Snail1, Snail2 (Slug), ZEB1(EF1), ZEB2(SI1), LEF, Twist, E12/E47 и другие. Центральную роль среди них играет суперсемейство Snail1/Snail2(Slug), это наиболее консервативные факторы, прослеживаемые в эволюции от насекомых до позвоночных [22, 24]. Различные сигнальные пути связаны с индукцией членов семейства Snail в ЭМТ. Snail блокирует E-кадгерин через прямое соединение с промотором его гена, который регулирует адгезивное соединение эпителиальных клеток, а также Snail прямо связывается с промоторами генов клаудина и окклюдина – белков плотного соединения, ответственных за установление и поддержание полярности эпителия [10, 14]. Кроме того Snail индуцирует экспрессию транскрипционного фактора ZEB1, который также репрессирует E-кадгерин менее сильно, чем Snail, однако дольше чем Snail [10]. Следует отметить, что Snail является лабильным белком с коротким периодом жизни [40]. ZEB1 влияет на потерю фактора полярности эпителиальных клеток Jgl 2, другие репрессоры транскрипции (Snail/Slug), также ведут к редукции Jgl 2 [34]. В процессе ЭМТ происходит потеря еще одного регулятора полярности эпителия Par 6 и ансамбля плотного соединения через один из ключевых регуляторов ЭМТ экстрацеллюлярного происхождения трансформирующий фактор роста бета (TGFβ) [26]. Факторы полярности эпителиальных клеток могут быть вовлечены в асимметричное деление стволовых клеток, потеря которого, т.е. симметричное деление их, ведет к накоплению недифференцированных стволовых клеток, например, в опухолях [34].

Наряду с потерей эпителиального E-кадгерина в процессе ЭМТ появляются мезенхимальные кадгеринины (N-кадгерин, кадгерин 11), происходит так называемое переключение (switch) кадгеринов, с клеточно-клеточной на клеточно-матриксную адгезию [19]. Snail репрессирует также эпителиальные маркеры цитokerатин-18 и MUC-1, влияние Snail на MUC-1 также осуществляется через промотор гена, одновременно Snail индуцирует экспрессию мезенхимальных маркеров фибронектина и LEF-1 (лимфоид усиливающий фактор). Snail и ZEB1 индуцируют сверхэкспрессию ILK-1 (интегрин связанную киназу), которая обуславливает приобретение эпителием фибробластического фенотипа [10]. Гены, регулируемые Snail и Slug участвуют при ЭМТ во многих сигнальных путях включая пути нерцепторных тирозинкиназ (v-yes) [19]. К нерцепторным тирозинкиназам относятся Src, которая играет критическую роль в регуляции пролиферации, дифференцировки, миграции и инвазии, ангиогенеза, иммунной функции [36]. Src также контролирует клеточную адгезию, индуцирует переключение

с кадгерин опосредованной клеточно-клеточной на интегрин опосредованную клеточно-матриксную адгезию, что способствует клеточной миграции [38].

### Роль ЭМТ в эмбриогенезе

ЭМТ играет роль во многих стадиях развития эмбриона, включая гастрюляцию, в которой эмбриональный эпителий порождает мезодерму, при этом центральную роль занимает суперсемейство факторов транскрипции Snail, путем ингибции экспрессии нейроэктодермальных генов, являясь промотором движения клеток [11, 24, 28]. Дефицитные по Snail мыши дают дефекты формирования мезодермального герминативного слоя: хотя появляются маркеры мезодермы, но в ней имеются лакуны, высланные клетками с эпителиальными характеристиками (сохранением экспрессии E-кадгерина и адгезивных соединений, апикально-базальной полярностью) [3]. У мышей-мутантов с угнетением ЭМТ происходит остановка гастрюляции, опосредованная супрессией эпителиально-мезенхимального перехода в вентральном крае эктодермы [25]. Гастрюляция осуществляется путем вовлечения в пролиферацию региональных стволовых и прогениторных клеток популяции [18]. Snail - семейство участвует в регуляции клеточной смерти и выживания, так Slug (Snail 2) репрессирует антиапоптотический ген BCL-X, вовлечен в процесс асимметрии клеточного деления и лежит в основе генетического каскада, который дает билатеральную асимметрию тела. Различные сигнальные пути связаны с индукцией членов Snail-семейства в ЭМТ: TGFβ, Wnt, FGF. Другие факторы транскрипции, которые являются важными в ЭМТ (Twist, E47, SIP-1), также включены в эмбриогенез [22, 24]. Хотя Snail и Slug (Snail 2) являются высоко гомологичными членами одного консервативного семейства, способного давать ЭМТ, но они могут играть различную роль в эмбриогенезе млекопитающих. Snail является существенным для раннего развития мыши, для правильно текущей гастрюляции [3], Slug является несущественным во время эмбрионального развития, но он необходим у взрослых для дифференцировки и/или поддержания специфичности клеточных линий, в частности для функции стволовых клеток [19].

Snail-суперсемейство играет важнейшую роль в процессах нервной дифференцировки. Семейство Snail в эволюции связано с появлением неврального гребешка, который необходим для образования головы у позвоночных, что отличает их от хордовых и коррелирует со сдвигом к более активной жизни, появлению парных органов чувств. Slug вовлечен в спецификацию неврального гребешка с расслоением его и миграцией клеток и затем возвратом к нейроэктодермальному фенотипу [24]. При расслоении неврального гребешка продуцируется популяция высоко мобильных клеток, которые мигрирует среди мезенхимы через экстрацеллюлярный матрикс и внедряются во многие различные ткани [23, 28]. Вероятно, с этим этапом эмбриогенеза связано появление нейроэндокринных клеток в слизистых оболочках и различных органах, а также существование в

нормальных органах клеток с бипотентной дифференцировкой – нейроэндокринной и эпителиальной [44], нейроэндокринной и мышечной в миоэндокринных клетках предсердий и желудочков сердца [45]. Бипотентные клетки встречаются в слизистой оболочке желудка, экспрессируя одновременно цитокератины (маркер эпителия) и хромогранин А (маркер нейроэндокринной дифференцировки).

### Роль ЭМТ в генезе фиброза

Индукция ЭМТ может подвергать риску механическую и физиологическую целостность ткани, и несвоевременная индукция его может иметь губительные последствия. Хроническое воспаление или условия, способствующие поддержанию гибели ткани могут стимулировать ЭМТ, при котором образующиеся из эпителия фибробласты продуцируют экстрацеллюлярный матрикс, стимулируется фиброз [28].

В почке не все активированные фибробласты происходят из резидентных интерстициальных фибробластов, многочисленные группы их демонстрируют тубулярное происхождение [8]. В модели унилатеральной обструкции мочеточника показано, что свыше 36% всех матрикс-продуцирующих клеток происходят из тубулярного эпителия [8, 15]. Эпителиальные клетки с экспозицией Snail в зрелой почке претерпевают ЭМТ у трансгенных мышей [22]. Экспрессия Snail в условия патологии наблюдалась в полях фиброза почек человека [2]. Snail повышен при ЭМТ гепатоцитов плодов крыс, наиболее вероятным механизмом возрастания экспрессии Snail является деметилирование его промотора [7].

ЭМТ встречается и приводит к фиброзу легких, а также в брюшине при перитонеальном диализе. Обработка мезотелиальных клеток жидкостью после перитонеального диализа ведет к снижению в них экспрессии E-кадгерина, цитокератина, рассеиванию клеток и веретенообразной форме их. Экспрессия Snail в этом случае предупреждается блокадой ERK (экстрацеллюлярная регуляторная киназа) или NF- $\kappa$ B (нуклеарный фактор каппа B) и происходит восстановление морфологии клеток и маркеров эпителия [35]. Следовательно, установление механизма развития фиброза может быть полезным с точки зрения разработки новых подходов к предупреждению и терапии его.

При заживлении инфаркта миокарда TGF  $\beta$  инициирует переход от фазы воспаления к фазе фиброза, он стимулирует пролиферацию фибробластов, переход их в миофибробласты и продукцию экстрацеллюлярного матрикса [30]. Ингибция TGF  $\beta$  в экспериментальном инфаркте миокарда ведет к дилатации левого желудочка и возрастанию смертности [9]. Наличие миофибробластов, очевидно, препятствует растяжению рубцовой ткани из-за создания миофибробластами натяжения, благодаря их сократительной активности. Наличие миофибробластов отмечено в строме легкого при идиопатическом фиброзирующем альвеолите (рис. 1, см. цвет. вкладку 1).

### Роль ЭМТ в карциногенезе и прогрессии рака

Свойства эпителиальных клеток, которые они получают в результате эпителиально-мезенхимальной трансформации – способность отделяться от соседних клеток, избегать апоптоза, инвазировать окружающую ткань – особенно опасны в процессе возникновения и прогрессии опухоли, приобретения способности к метастазированию [28, 39].

### Какие же факторы определяют вероятность ЭМТ в опухоли?

Во-первых, в опухоли профили экспрессии генов должны отражать программу дифференцировки нормальных клеток, из которых она исходит и которая сохраняется как прогениторная всех опухолевых клеток, то есть возможность развития ЭМТ зависит от гистогенеза опухоли, специфического генетического фона [31, 39]. Так, в раке молочной железы из 4 типов опухолей, выделенных в последнее время на основе микроэррей и иммуногистохимических исследований: 1) нормально-подобный фенотип; 2) люминальный фенотип, положительный к рецепторам эстрогенов; 3) HER-2- положительный фенотип, отрицательный к рецепторам эстрогенов; 4) базально-подобный фенотип с экспрессией маркеров к миоэпителию, отрицательный к рецепторам эстрогенов [43]. ЭМТ наиболее часто встречается в базально-подобном фенотипе, который по гистологической картине и происхождению является инвазивным протоковым раком. Хотя предполагалось, что скорее ЭМТ возникнет в дольковой карциноме вследствие отсутствия в ней E-кадгерина и диффузного инвазивного роста, но дольковый рак редко экспрессирует маркеры ЭМТ, только в 4% случаев клетки опухоли были положительны на виментин, SPARC и кадгерин 11 [32]. Snail опосредует ЭМТ путем репрессии рецепторов к эстрогенам на уровне матричной РНК и белковом уровне [6].

Во-вторых, склонность к ЭМТ зависит, вероятно, от характера нарушений в опухолевых клетках, приобретенных в результате мутаций генов или метилирования промоторов [39]. Так, например, в диффузном раке желудка E-кадгерин был снижен в 11 из 28 случаев (39%), но только в 6 из них за счет активации Snail, только в этих 6 случаях диффузного рака отмечено повышение N-кадгерина (т.е. switch кадгеринов), что способствует миграции клеток. В 4 из этих 6 случаев была сверхэкспрессия еще и Twist. В кишечном типе рака желудка снижение экспрессии E-кадгерина наблюдалась в 12 из 20 случаев (60%), из них в 10 случаях за счет активации SIP1 [29]. Следовательно, потеря экспрессии E-кадгерина за счет активации факторов транскрипции (TFs) в кишечном раке встречается чаще (50%), чем в диффузном (21,4 %). Однако, в раке желудка диффузного типа как семейного, так и спорадического возможна мутация гена E-кадгерина CDH1 (в 1/3 семей), или инактивация путем метилиации промотора его с образованием крупных перстневидных

клеток с доброкачественным течением таких опухолей, а затем активация Src-гена, что приводит к образованию мелких недифференцированных клеток, с выраженной прогрессией и инвазией опухоли [12]. Авторы наблюдали, что снижение экспрессии E-кадгерина не коррелирует с мезенхимальным фенотипом опухоли и не является достаточным для ЭМТ, активация Src – центральное событие прогрессии с появлением мезенхимального фенотипа (фибронектина в опухолевых клетках), способствует появлению злокачественного фенотипа и агрессивному поведению рака [13]. Роль Src-активации в развитии ЭМТ подчеркивается и другими авторами [36]. В нашем материале в диффузном раке желудка мы наблюдали экспрессию мезенхимального маркера виментина не только в вытянутых фибробластоподобных клетках, экспрессирующих и цитokerатин (маркер эпителия), но и в перстневидных клетках в диффузном типе рака желудка (рис. 2, см. цвет. вкладку 1), причем полная ЭМТ с потерей цитокератина наблюдалась именно в перстневидных клетках, при сохранении экспрессии цитокератина в мелких недифференцированных опухолевых клетках (рис. 3, см. цвет. вкладку 1).

Таким образом, передаваемая по наследству мутация E-кадгерина, либо метилиция его промотора (например, под действием хеликобактера) [4], угнетает функцию E-кадгерина, ведет к возрастанию риска диффузного рака желудка и создает предпосылки для ЭМТ.

Чтобы понять причину и механизмы возникновения ЭМТ в опухоли, нужно обратиться еще раз к эмбриогенезу и причинам ЭМТ в неопухолевой ткани. В эмбриогенезе ЭМТ возникает в ответ на различные сигналы из рядом расположенных клеток. Вероятно, и в процессе прогрессии опухоли эти сигналы продуцируются мезенхимальными клетками опухоль-ассоциированной стромы [39]. Сигналы стромально-мезенхимальных взаимодействий являются двунаправленными [42]. Опухолевые клетки могут влиять на строму через избыточную экспрессию факторов роста или индукцию их в строме [21], с другой стороны нормальное микроокружение на ранних этапах опухолевого роста препятствует пролиферации опухолевого клона, пока в результате мутаций он не выйдет из-под контроля и не приобретет способность к автономному неконтролируемому росту [41]. По мере прогрессии опухоли строма становится более «активирующей», приобретает свойства соединительной ткани в зоне активного заживления раны, хронического воспаления [39]. Т.А Франк и К.К. Пугачев [46] выделяют две особенности фибробластов, обычно ассоциируемых с неоплазией: приобретения ими фенотипа гладкомышечных клеток – миофибробластов и эмбриональных признаков дифференцировки. Миофибробласты являются главным стромальным компонентом и прогностическим маркером многих опухолей [33]. Они секретируют цитокины, протеазы и матриксные белки, обнаруживаются чаще в инвазивном крае опухоли [17].

Ответственными за трансдифференцировку фибробластов в миофибробласты является трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) [5, 17], один из экстрацеллюляр-

ных сигналов, индуцирующих ЭМТ (см. схему Radisky D., 2005). TGF  $\beta$  стимулирует синтез в миофибробластах гепатоцитарного фактора роста (HGF), называемого также фактором рассеивания [17], который вовлечен в процессы инвазии и метастазирования опухолей [16, 27], быть может также путем включения ЭМТ (см. схему Radisky D., 2005).

В нашем материале мы встречали миофибробласты, экспрессирующие  $\alpha$ -гладкомышечный актин (рис. 4, см. цвет. вкладку 1) и виментин (рис. 5, см. цвет. вкладку 2) в строме рака желудка, чаще в очагах пролиферации опухолевых клеток.

Что касается эмбрионального типа фибробластов в опухолевой строме, то, вероятно, они могут возникать в опухоли из стволовых мезенхимальных клеток костного мозга, который генерирует различные типы прогениторных клеток [39], эмбрионального типа фибробласты тоже могут быть источником сигналов, влияющих на паренхиму опухоли.

Интересно, что стволовые клетки из нормальной и опухолевой молочной железы имеют базальноподобный фенотип и экспрессировали гены ЭМТ. Склонность базальноподобных раков к ЭМТ может отражать внутреннюю фенотипическую пластичность стволовых клеток [32].

Базальноподобный фенотип отражает миоэпителиальные, то есть бипотентные клетки со свойствами одновременно эпителиальной и мышечной ткани, очевидно, клетки-предшественники, прогениторные, полустволовые клетки. К такого типа клеткам относятся и миофибробласты, и мионейроэндокринные атриальные клетки, и эпителиальные опухолевые клетки с нейроэндокринной дифференцировкой, которые, продуцируя гастрин, имеют морфологию вытянутых фибробластоподобных клеток (рис. 6, см. цвет. вкладку 2). Можно предполагать, что возникшие из бипотентных клеток опухоли также будут склонны к ЭМТ.

В экспериментальной модели аденокарциномы предстательной железы у трансгенных мышей на фоне атипической гиперплазии возникал быстро развивающийся и прогрессирующий нейроэндокринный рак, показывающий свойства бипотентных стволовых клеток с коэкспрессией маркеров эпителия (E-кадгерина) и нейроэндокринной линии (синаптофизин).

В описанном Numar B. et al. [13] диффузном раке желудка после крупных перстневидных клеток в результате потери E-кадгерина, вследствие активации c-Src и ЭМТ возникают недифференцированные мелкие округлые опухолевые клетки с выраженной инвазией.

В нашем большом материале исследований рака желудка также, как правило, перстневидноклеточный рак сочетался с мелкоклеточным. Мы наблюдали «выскальзывание» единичной перстневидной клетки в строму из пласта поверхностного эпителия, очевидно, из-за потери связи с соседними клетками (рис. 7, см. цвет. вкладку 2). Часто в них отмечалась нейроэндокринная дифференцировка с наличием аргирофилии по Гримелиусу (рисунок 8), экспрессии хромогранина А,

иногда нейронспецифической энолазы и гастрин (рис. 8, см. цвет. вкладку 2). Эти опухоли отличались высокой частотой инвазии сосудов и метастазированием.

Знание механизмов развития и морфологических проявлений ЭМТ помогают понять механизмы инвазии и метастазирования, согласно R.A. Weinberg (2008) [39], различные этапы «метастатического каскада». Обобщая результаты многих исследований, автор показывает, что в первичной опухоли не может быть селекции клеток, направленной на метастазирование (обычно клетки первичной опухоли и метастазов имеют сходный фенотип), и диссеминация из первичной опухоли является почти случайным побочным эффектом в первичной опухоли скорее, чем активная селекция. В первичной опухоли постепенно происходят изменения в строме, ее активация, и она становится источником сигналов для ЭМТ в соседних раковых клетках. После ЭМТ опухолевые клетки приобретают способность к инвазии сосудов из-за клеточной подвижности и освобождения энзимов расщепления экстрацеллюлярного матрикса, способность сохраняться во время циркуляции в крови или лимфе из-за резистентности к апоптозу, и способность к экстравазации. Однако, они поселяются в различных органах, строма которых нормальна, к ней опухолевые клетки не адаптированы, отсутствие совместимости между вновь пришедшими раковыми клетками и окружающими тканями объясняет низкую частоту успеха последнего этапа метастазирования – роста микрометастазов в макрометастазы. Предполагается, что малое число из тысяч микрометастазов успешно растут в макрометастазы [39]. Таким образом, возникающая на определенном генетическом фоне в процессе прогрессии и длительного взаимодействия паренхимы и стромы эпителиальных опухолей эпителиально-мезенхимальная трансформация ведет к резкому усилению инвазивных и метастатических потенций опухоли, приобретение устойчивости к химиотерапии благодаря резистентности к апоптозу и определяет неблагоприятный прогноз таких опухолей.

**Заключение.** Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) является сложным многоступенчатым процессом, контролируемым многими генами различных сигнальных путей, решающее значение в развитии которого является активация факторов транскрипции, возникающая под действием сигналов из микроокружения или даже внешней среды. Процесс может быть обратимым, либо поддерживаться в течение всей жизни организма.

В эмбриогенезе и развитии организма он играет ключевую роль в процессе гаструляции, формирования мезенхимы и поддержания фенотипа мезенхимальных клеток; в образовании нервной системы, как центральной, так и периферической, включая парные органы чувств, нейроэндокринную систему; в органогенезе; в образовании и поддержании стволовых клеток, асимметричности их деления; в асимметрии формирования организма.

ЭМТ играет важную роль в процессах регенерации в частности в заживлении ран, инфаркта миокарда, течении хронического воспаления, однако длительное поддержание этого процесса, иногда необратимость его ведет к избыточному образованию фиброзной ткани, возможно ремоделирование органа с различным влиянием его на функцию органа.

В опухолях ЭМТ лежит в основе прогрессии, важнейшие этапы ее – изменение клеточно-клеточной и клеточно-матриксной адгезии, приобретение способности к движению, миграции клеток, угнетение апоптоза и увеличение выживаемости клеток, иногда симметричное деление опухолевых стволовых клеток создают предпосылки для усиленной инвазии и метастазирования опухолей, агрессивности течения их, устойчивости к терапии, плохому прогнозу.

#### Литература

1. Bakin AV, Rinehart C, Tomlinson AK, Arteaga CL. p38 mitogen-activated protein kinase is required for TGFbeta-mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration. // J Cell Sci. -2002- V 1, N 115(Pt 15), - P 3193-206.
2. Boutet, A., De Frutos, C. A., Maxwell. P. H., Mayol, M. J., Romero, J. and Nieto, M. A. Snail activation disrupts tissue homeostasis and induces fibrosis in the adult kidney. EMBO J. 2006 25,5603 -5613.
3. Carver E. A., Rulang Jiang, Yu Lan, Kathleen F. Oram, and Thomas Gridley. The Mouse Snail Gene Encodes a Key Regulator of the Epithelial-Mesenchymal Transition. //Molecular and Cellular Biology. -2001- V 21, N 23, -P 8184-8188
4. Conlin VS, Curtis SB, Zhao Y, et al. Helicobacter pylori infection targets adherens junction regulatory proteins and results in increased rates of migration in human gastric epithelial cells // Infect Immun. - 2004. - N72. – P. 5181–5192
5. Davidson B., Goldberg L., Kopolovic J. et al. MMP-2 and TIMP-2 Expression Correlates with Poor Prognosis in Cervical Carcinoma—A Clinicopathologic Study Using Immunohistochemistry and mRNA in Situ Hybridization // Gynecol. Oncol. – 1999. – V. 73, N3. – P. 372-382.
6. Dhasarathy, A., Kajita, M., Wade, P. A. . The Transcription Factor Snail Mediates Epithelial to Mesenchymal Transitions by Repression of Estrogen Receptor- $\alpha$  //Mol. Endocrinol. -2007 - V21, -P 2907-2918
7. Fraga MF, Herranz M, Espada J, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Erkek E, Bozdogan O, Peinado H, Niveleau A, Mao JH, Balmain A, Cano A, Esteller M. A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors // Cancer Res. – 2004.- V64, N16. – P. 5527-5534.
8. Frank S. How Many Different Roads May a Cell Walk down in Order to Become a Fibroblast? //J Am Soc Nephrol. -2008.- V19, - P 2246-2248
9. Frantz S., Hu K., Adamek A., Wolf J., Sallam A., Maier S.K. Transforming growth factor beta inhibition increases mortality and left ventricular dilatation after myocardial infarction // Basic Res Cardiol. – 2008. – V.103. – P. 485-494.
10. Guaita, S., Puig, I., Franci, C., Garrido, M., Dominguez, D., Baille, E., Sancho, E., Dedhar, S., de Herreros, A. G., Baulida, J. Snail Induction of Epithelial to Mesenchymal Transition in Tumor Cells Is Accompanied by MUC1 Repression and ZEB1 Expression. //J. Biol. Chem. -2002- V 277, -P 39209-39216
11. Hammerschmidt, M., Wedlich, D. Regulated adhesion as a driving force of gastrulation movements. //Development. -2008- V 135, - P 3625-3641
12. Humar B, Fukuzawa R, Blair V, Dunbier A, More H, Charlton A, Yang HK, Kim WH, Reeve AE, Martin I, Guilford P. Destabilized adhesion in the gastric proliferative zone and c-Src kinase activation

mark the development of early diffuse gastric cancer // *Cancer Res.* – 2007. – V. 67, N6. – P.2480-2489.

13. *Humar, B., Fukuzawa, R., Blair, V., Dumbier, A., More, H., Charlton, A., Yang, H.K., Kim, W.H., Reeve, A.E., Martin, I., and Guilford, P.* Destabilized adhesion in the gastric proliferative zone and c-Src kinase activation mark the development of early diffuse gastric cancer // *Cancer Res.* – 2007. – V 67, N6. – P 2480-9

14. *Ikenouchi, J., Matsuda, M., Furuse, M., Tsukita, S.* Regulation of tight junctions during the epithelium-mesenchyme transition: direct repression of the gene expression of claudins/occludin by Snail. // *J. Cell Sci.* – 2003- V116, – P 1959-1967

15. *Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Odaka H, Neilson EC.* Evidence that fibroblast derived from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest* 2002; 110: 341–350.

16. *Kubota T, Fujiwara H, Amaike H. et al.* Reduced HGF expression in subcutaneous CT26 tumor genetically modified to secrete NK4 and its possible relation with antitumor effects // *Cancer Sci.* – 2004. – V. 95, N4. – P. 321-327.

17. *Lewis M.P., Lygoe K.A., Nystrom M.L. et al.* Tumour-derived TGF-beta1 modulates myofibroblast differentiation and promotes HGF/SF-dependent invasion of squamous carcinoma cells // *Br J Cancer.* – 2004. – V. 90, N4. – P. 822-832

18. *McGrew M. J., A. Sherman, S. G. Lillico, F. M. Ellard, P. A. Radcliffe, H. J. Gilhooley, K. A. Mitrophanous, N. Cambray, V. Wilson, and H. Sang* Localised axial progenitor cell populations in the avian tail bud are not committed to a posterior Hox identity // *Development.* – 2008.- N135. – P.2289-2299.

19. *Moreno-Bueno Gema, Eva Cubillo, David Sarrió, Héctor Peinado, Socorro María Rodríguez-Pinilla, Sonia Villa, Victoria Bolós, Mireia Jordá, Angels Fabra, Francisco Portillo, José Palacios and Amparo Cano.* Genetic Profiling of Epithelial Cells Expressing E-Cadherin Repressors Reveals a Distinct Role for Snail, Slug, and E47 Factors in Epithelial-Mesenchymal Transition. // *Cancer Research.* – 2006- V 66,- P 9543-9556

20. *Mori K. Shibamura M. Nose K.* Invasive potential induced under long-term oxidative stress in mammary epithelial cells. // *Cancer Res.* -2004- V64, -P 7464-7472

21. *Peinado, H., Quintanilla, M. and Cano, A.* Transforming growth factor beta-1 induces snail transcription factor in epithelial cell lines: mechanisms for epithelial mesenchymal transitions. // *J. Biol. Chem.*- 2003- V 278, – P 21113-21123.

22. *Mueller MM, Fusenig NE.* Tumor-stroma interactions directing phenotype and progression of epithelial skin tumor cells // *Differentiation.* – 2002. – V. 70,N9-10. – P. 486-497.

23. *Nieto M.A.* Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives. // *Int J Dev Biol.* -2008- V10.

24. *Nieto M.A.* The early steps of neural crest development. // *Mech. Dev.* -2001- V 105. – P 27-35

25. *Nieto MA.* The snail superfamily of zinc-finger transcription factors. // *Nat Rev Mol Cell Biol.* -2002- V 3(3), - P155-66

26. *Ohta Sho, Kentaro Suzuki, Katsuro Tachibana, Hideaki Tanaka, Gen Yamada.* Cessation of gastrulation is mediated by suppression of epithelial-mesenchymal transition at the ventral ectodermal ridge. // *Development.* -2007- V 134,-P 4315-4324

27. *Ozdamar, B., Bose, R., Barrios-Rodiles, M. et al.* Regulation of the polarity protein Par6 by TGFbeta receptors controls epithelial cell plasticity. // *Science.* – 2005- V 307, – P 1603-1609

28. *Park W.S., Oh R.R., Kim Y.S. et al.* Absence of mutations in the kinase domain of the Met gene and frequent expression of Met and HGF/SF protein in primary gastric carcinomas // *APMIS.* – 2000. – V. 108, N3. – P. 195-200.

29. *Radisky D. C.* Epithelial-mesenchymal transition. // *Journal of Cell Science.* -2005- V 118, – P 4325-4326

30. *Rosivatz, E., Becker, I., Specht, K., Fricke, E., Lubber, B.,*

*Busch, R., Hofler, H., Becker, K.-F.* Differential Expression of the Epithelial-Mesenchymal Transition Regulators Snail, SIP1, and Twist in Gastric Cancer. // *Am. J. Pathol.* -2002- V 161, – P 1881-1891.

31. *Rozenkranz S.* TGF beta 1 and angiotensin networking in gastric remodeling // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – V 63. – 423-432/

32. *Sarrió D , Socorro María Rodríguez-Pinilla, David Hardisson, Amparo Cano, Gema Moreno-Bueno, José Palacios.* Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Cancer Relates to the Basal-like Phenotype. // *Cancer Research.* -2008- V 68, – P 989

33. *Sarrió D., S. M. Rodríguez-Pinilla, D. Hardisson, A. Cano, G. Moreno-Bueno, and J. Palacios* Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Cancer Relates to the Basal-like Phenotype. *Cancer Res.* – 2008. – V 68, N4. – P. 989 - 997.

34. *Sobral A.P., Loducca S.V., Nunes F.D., et al.* Relationship between major and minor salivary gland mucoepidermoid carcinoma malignancy grading and presence of stromal myofibroblasts: immunohistochemical study // *J Oral Pathol Med.* – 2004. – V. 33, N6. – P. 335-339.

35. *Spaderna S, Schmalhofer O, Wahlbuhl M, Dimmler A, Bauer K, Sultan A, Hlubek F et al.* The transcriptional repressor ZEB1 promotes metastasis and loss of cell polarity in cancer. // *Cancer Res.* – 2008- V 68, -P 537544

36. *Strippoli R., Benedicto I., Perez Lozano M. L., Cerezo A., Lopez-Cabrera M., del Pozo M. A.* Epithelial-to-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells is regulated by an ERK/NF- $\kappa$ B/Snail1 pathway // *Dis. Model. Mech.*- 2008.- V1, N4-5. – P.264 - 274.

37. *Summy J. M. Gallick G. E.* Treatment for Advanced Tumors: Src Reclaims Center Stage // *Clin. Cancer Res.* - 2006.- V12, N5. - 1398 - 1401

38. *Teresa Chiaverotti, Suzana S. Couto, Annemarie Donjacour, Jian-Hua Mao, Hiroki Nagase, Robert D. Cardiff, Gerald R. Cunha and Allan Balmain.* Dissociation of Epithelial and Neuroendocrine Carcinoma Lineages in the Transgenic Adenocarcinoma of Mouse Prostate Model of Prostate Cancer // *American Journal of Pathology.* – 2008. - V172. – P.236-246

39. *Walker Janice L., Iris M. Wolff, Liping Zhang, and A. Sue Menko.* Activation of Src Kinases Signals Induction of Posterior Capsule Opacification. // *Investigative Ophthalmology and Visual Science.* -2007- V48, -P 2214-2223.

40. *Weinberg RA.* Mechanisms of malignant progression. *Carcinogenesis* 2008;29:1092-1095.

41. *Wu, Y., Evers, B. M., Zhou, B. P. (2009).* Small C-terminal Domain Phosphatase Enhances Snail Activity through Dephosphorylation. *J. Biol. Chem.* 284: 640-648

42. *Абелев Г.И.* // *Биохимия.* – 2000. – Т. 65, №1. – С. 127-138.

43. *Кабак С.Л., Феценко С.П., Аниськова Е.П.* Костно-суставная система (морфологические и биохимические аспекты формирования). – Минск. – 1990. – 189 с

44. *Постолок І.І., Волос Л.І.* Міоепітеліальні пухлини молочної залози: імуногістохімічна верифікація // *Питання експериментальної та клінічної медицини.* – 2006. – Т 1, вип. 10. – С. 188-192.

45. *Райхлин Н. Т., Кветной И.М., Осалчук М.А.* APUD-система (общепатологические и онкологические аспекты) / *Райхлин Н. Т., Кветной И.М., Осалчук М.А.* – Обнинск: 1993. – 261с.

46. *Туманский В.А., Туманская Н. В.* Натрийуретические пептиды: биогенез, функции и роль в патологии // *Патология.* – 2008. – Т.5, № 4. – С. 4-13

47. *Франк Г.А., Пугачев К.К.* Компоненты стромы в раке желудка и толстой кишки (иммуногистохимическое исследование) // *Архив патологии.* – 1992. - №2. – С. 74-78.

#### Сведения об авторах:

Василенко Инна Васильевна, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького.

#### Адрес для переписки:

83003 г. Донецк, пр. Ильича 16, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, кафедра патологической анатомии, тел. 8 (062) 295-63-33.