

УДК 616.33 – 006.6 – 091.8 – 018.7

© Ю.К. Гульков, 2011.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПАРЕНХИМЕ ОПУХОЛИ ПРИ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ РАКА ЖЕЛУДКА

Ю.К. Гульков

*Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, кафедра патоморфологии, г. Донецк.*

### MORPHOLOGICAL FEATURES OF DIFFERENT GENETIC PROGRAMS INVOLVEMENT DURING EPITHELIO-MESENCHYMAL TRANSFORMATION IN GASTRIC CANCER OF MAIN HISTOLOGICAL TYPES

Ju.K.Gul'kov

#### SUMMARY

In order to detect epithelio-mesenchymal transformation (EMT) and recognize its role in biological behavior of the tumor, 78 cases of gastric cancer were studied. These cases represented different histological types - intestinal, diffuse, and mixed, which were investigated by histological, histochemical, and immunohistochemical (some cases) methods. The study showed difference between histological types of gastric cancer in regard of frequency and distribution of EMT and revealed inhibitory effect of EMT on proliferation of the malignant cells and degree of immunocellular infiltration (immunosuppression). Contrary, EMT stimulates angiogenesis and increases angioinvasive abilities of the malignant cells. Besides that, due to EMT the cancer cells develop stem cell qualities and can differentiate along different cellular lines: they not only secrete mucin, especially in signet ring cells, but frequently acquire endocrine cells characteristics. The morphological features of EMT in the tumors are not always shown to full extend; in some cases there are deviations from the common rule: while some features are present (for example, single cells), the others (for example, change in cellular shape, vimentin expression) may be absent.

### МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ПАРЕНХІМІ ПУХЛИН У ВИПАДКАХ ЕПІТЕЛІАЛЬНО-МЕЗЕНХІМАЛЬНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ РІЗНИХ ГІСТОЛОГІЧНИХ ТИПІВ РАКУ ШЛУНКА

Ю.К. Гульков

#### РЕЗЮМЕ

Для виявлення епітеліально-мезенхімальної трансформації (ЕМТ) та впливу її на біологічну поведінку пухлини досліджено 78 випадків раку шлунка різних гістологічних типів – кишковий, дифузний та змішаний, з використанням гістологічних, гістохімічних, імуногістохімічних (у частині випадків) методів дослідження. Встановлені розбіжності у частоті та розповсюженості ЕМТ між різними гістологічними типами раку шлунка. Показана пригнічуюча дія ЕМТ на проліферативну активність пухлинних клітин, ступінь виразності імуноклітинної інфільтрації (імуносупресивна дія) та стимулююча дія її на неоангіогенез, а також здатність пухлинних клітин інвазувати судини. Крім того, після ЕМТ пухлинні клітини набувають властивості стовбурових клітин та здатні диференціюватись у різних напрямках – крім секреції муцину, особливо у персневидних клітинах, вони часто характеризуються ендокринноклітинною диференційовкою. Не завжди морфологічні ознаки ЕМТ у пухлинах виявляються у повній мірі, в окремих випадках має місце відхилення від загальної закономірності: при наявності одних ознак (наприклад, відокремленості клітин) інші (наприклад, зміна форми клітин, експресія вементину) – відсутні.

**Ключевые слова:** эпителиально-мезенхимальная трансформация, рак желудка.

Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) в патологии является сложным процессом, индуцируемым различными факторами (воспалением, гипоксией, активными формами кислорода) и регулируемым многими системами сигнальной трансдукции с вовлечением факторов транскрипции и генными программами, регулирующими переход клеток от эпителиального фенотипа к мезенхимальному [5,8]. Ее частота и распространенность в раке желудка не изучена несмотря на огромное теоретическое и практическое значение этого процесса в опухолях.

Многие морфологические проявления ЭМТ можно диагностировать уже при обычной окраске

гистологических препаратов гематоксилином и эозином, другие требуют более сложных, но доступных и необходимых для диагностики опухолей методов.

Значение ЭМТ в опухолях особенно велико, т.к. этот процесс резко увеличивает инвазивность опухолевых клеток, способствует метастазированию [8,13].

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Морфологически изучены 78 случаев оперативного удаленных раков желудка, из них 36 диффузного типа, 27 кишечного и 15 смешанного типа с использованием окраски гистологических препаратов гематоксилином и эозином, PAS-реакции, импрегнации серебром по Гримелиусу для выявления нейро-эндокринной дифференцировки. В 19 случаях прове-

дено иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных антител к панцитокератину AE1/AE3, цитокератину 18, виментину, гладкомышечному актину, гастрину, хромогранину А, а также для оценки пролиферативной активности Ki-67. В остальных случаях пролиферативную активность оценивали по числу митозов в поле зрения при ув400. Менее 10 митозов расценивали как слабую пролиферативную активность, 10 и более – как выраженную.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ключевым моментом в развитие ЭМТ является репрессия гена E-кадгерина, кодирующего белок клеточной адгезии, а также белков плотных соединений в эпителиальных клетках под действием Snail и других регуляторов транскрипции [2,4,6]. Эти генетические изменения ведут к потере связи опухолевых клеток друг с другом, потере ими полярности, что сопровождается обособлением клеток, а также приобретением ими отросчатой фибробластоподобной формы и подвижности.

В диффузных раках желудка обособление клеток является характерной чертой перстневидноклеточного, мелкоклеточного и полиморфноклеточного рака и наблюдалось на всем протяжении опухоли в 31 из 36 случаев, т.е. ЭМТ была распространенной. В 5 наблюдениях в диффузном раке выявлялись еще и мелкие очаги аденокарциномы, солидного рака, в которых опухолевые клетки были связаны друг с другом. Эти случаи были расценены как очаговая ЭМТ на большей части опухоли. Среди раков кишечного типа в 2 случаях на значительном протяжении от опухолевых желез отходили в строму отдельные тяжи, группы, или обособленные опухолевые клетки, что было расценено как распространенная ЭМТ, в 17 наблюдениях такой процесс был очаговым, чаще в крае инвазии опухоли в толщу стенки или в латеральном крае инвазии, в 8 случаях признаков ЭМТ не было обнаружено. Среди случаев смешанного рака только в одном была распространенная ЭМТ, в 11 случаях очаговая, в 3 – признаков ЭМТ не найдено.

С целью оценить сроки развития ЭМТ была проанализирована ее частота в случаях ранних (занимающих только слизистую оболочку и подслизистую основу) и продвинутых (распространенных) раков желудка, прорастающих собственно мышечный и более глубокие слои желудка. Обнаружилось, что в нашем материале редко встречаются случаи ранних раков, их совсем не было среди рака смешанного типа. Среди случаев рака кишечного типа в 5 наблюдениях были ранние раки, из них 2 из 17 с очаговой ЭМТ и 3 из 8 случаев без ЭМТ. В диффузном типе рак желудка был ранним в 4 случаях, в 2 из 31 случая с распространенной ЭМТ и в 2 из 5 случаев с очаговой ЭМТ. Т.о. наблюдения раннего рака несколько чаще встретились в раках кишечного типа, реже диффузного. Если объединить случаи этих раков по на-

личию и распространенности ЭМТ, то чаще всего ранние раки встретились в случаях без ЭМТ (3 из 11 – 27,3%), реже с очаговой ЭМТ (4 из 33 – 12,2%), еще реже при распространенной ЭМТ (2 из 34 – 5,9%). Таким образом, имеется незначительная тенденция к большей частоте и распространенности ЭМТ среди продвинутых форм рака желудка по сравнению с ранними. Но все-таки ЭМТ может возникать и на ранней стадии развития опухоли, при диффузном раке уже в слизистой оболочке опухоль имеет выраженные признаки ЭМТ.

Согласно литературным данным развитие ЭМТ зависит от степени выраженности атипизма [6]. Поскольку нередко в одной опухоли встречались участки с разной выраженностью клеточного атипизма мы выделили 3 степени градации его: слабый; слабый и умеренный; слабый, умеренный и выраженный, при этом случаи, когда в опухоли был только умеренный и выраженный клеточный атипизм были отнесены к последней третьей группе. Полученные результаты сопоставлений выраженности клеточного атипизма с гистологическим типом рака желудка и наличием и распространенностью ЭМТ в нем представлены в таблице № 1.

Таким образом, в случаях диффузного рака желудка чаще встречается слабый, слабый и умеренный клеточный атипизм, в раке кишечного и смешанного типа чаще атипизм включал выраженную степень его.

Поскольку распространенная ЭМТ чаще всего встречалась в диффузном раке (31 из 34 случаев), то при этом также чаще всего рак характеризовался слабым, слабым и умеренным атипизмом (74,9%), тогда очаговая ЭМТ чаще в случаях, где встречался выраженный атипизм (57,6%) и слегка даже с большей частотой (63,7%) выраженный клеточный атипизм был среди случаев без ЭМТ.

Эти результаты отличаются от литературных данных, так в раке молочной железы частота экспрессии Snail, ведущего к ЭМТ, коррелирована с гистологической степенью опухоли [14]. В нашем материале, наоборот, наличие и выраженность ЭМТ связана больше со слабо или слабо и умеренно выраженным клеточным атипизмом в опухоли. В случаях без ЭМТ наиболее часто обнаруживается выраженный атипизм клеток.

Вторым частым признаком ЭМТ является приобретением клетками веретенообразной, или отросчатой формы. Иногда такие клетки видны в пределах пласта опухолевых клеток, но чаще такая форма обнаруживается в обособленных клетках среди стромы. Такие изменения встречаются в очагах ЭМТ при любом типе РЖ, но чаще при диффузном. Наличие их в строме свидетельствует об инвазивных свойствах таких клеток. Изменения формы опухолевых клеток встречались с такой же частотой, как и их обособление и обычно сочетались друг с другом, но не обяза-

тельно совпадали друг с другом. Так, перстневидные клетки практически всегда обособлены, но часто со-

храняют круглую форму, редко в них появляется тенденция к приобретению отростков.

Таблица №1

**Степень выраженности клеточного атипизма в основных гистологических типах рака желудка в зависимости от наличия и распространенностью ЭМТ**

Тип РЖ	Степень выраженности клеточного атипизма	Распространенная ЭМТ	Очаговая ЭМТ	Нет ЭМТ	Всего
Диффузный рак	Слабый	9 случаев	2 случая	---	11 случаев 30,6%
	Слабый и умеренный	16 случаев	3 случая	---	19 случаев 52,8%
	Слабый, умеренный и выраженный	6 случаев	—	—	6 случаев 16,6%
Рак кишечного типа	Слабый	---	1 случай	---	1 случай 3,7%
	Слабый и умеренный	2	5 случаев	3	10 случаев 37,0%
	Слабый, умеренный и выраженный	—	11 случаев	5	16 случаев 59,3%
Рак смешанного типа	Слабый	---	---	---	---
	Слабый и умеренный	---	3 случая	1	4 случая 26,7%
	Слабый, умеренный и выраженный	1	8 случаев	2	11 случаев 73,3%
Всего	Слабый	9 26,5%	3 9,1%	---	
	Слабый и умеренный	18 52,9%	11 33,3%	4 36,3%	
	Слабый, умеренный и выраженный	7 20,6%	19 57,6%	7 63,7%	

Одним из следствий ЭМТ является угнетение пролиферации опухолевых клеток [1,7,8,9]. Частоту низкой пролиферативной активности сопоставили в группах с распространенной, очаговой ЭМТ и с отсутствием ее в основных гистологических типах рака желудка.

Пролиферативная активность опухолевых клеток

оценивалась по количеству митозов в поле зрения большого увеличения, в последних 19 случаях и по экспрессии в ядрах Ki-67. Если число митозов (или Ki-67 положительных ядер) было меньше 10 в поле зрения большого увеличения (400ув.) пролиферативная активность оценивалась как низкая, а 10 и более – как выраженная (Табл. 2).

Таблица № 2

**Частота угнетения пролиферативной активности**

	Кишечный	Смешанный	Диффузный	Всего
Распространенная ЭМТ	1 из 2 50%	1 случай 100%	36 случаев - 100%	38 из 39 - 97,4%
Очаговая ЭМТ	8 из 17 47%	9 из 11 82%	5 случаев 100%	22 из 33 66,7%
Нет ЭМТ	3 из 8 37,5%	0 из 3	---	3 из 11 27,3%
Всего	12 из 27 44,4%	10 из 15 66,6%	100%	

Случаи с низкой частотой митозов (или экспрессией Ki-67) чаще всего встречались при распространенной ЭМТ (97,4%), реже при очаговой (66,7%) и совсем редко при отсутствии ЭМТ (27,3%). Но при этом диффузный рак желудка характеризовался угнетением пролиферации во всех случаях (100%), смешанный в 66,6%, а кишечный в 44,4%. Следует отметить и разную частоту наличия и распространенности ЭМТ в этих типах рака желудка.

Таким образом частота угнетения пролиферативной активности, характерная для ЭМТ сравнивалась с распространенностью ее, а также с гистологи-

ческим типом рака желудка. Обособление опухолевых клеток при ЭМТ с изменением цитоскелета и нарушением полярности, приобретением веретенообразной, отросчатой (фибробластоподобной формы) способствует увеличению подвижности их, инвазии в окружающие ткани и сосуды. В нашем материале нередко наблюдалась инвазия сосудов опухолевыми клетками, наличие эмболов в просвете сосудов, что может служить одним из критериев инвазивности опухоли. Проанализирована частота опухолевых эмболов в сосудах в зависимости от наличия и распространенности ЭМТ. Результаты представлены в таблице № 3.

Таблица 3

**Удельный вес случаев с наличием инвазии сосудов опухолевыми клетками в зависимости от наличия и распространенности ЭМТ в раке желудка**

Характеристика ЭМТ		есть эмболы	нет эмболов	всего
Распространённая ЭМТ	случаи	24	9	33
	%	74,7	25,3	100
Очаговая ЭМТ	случаи	26	6	32
	%	81,2	18,8	100
Нет ЭМТ	случаи	4	7	11
	%	36,4	63,6	100

Интересно, что в 5 случаях диффузного рака желудка в сосудах отмечена мезенхимально-эпителиальная трансформация (МЭТ), т.е. в случаях рассыпного типа роста в первичной опухоли, в эмболах была аденокарцинома со связью клеток друг с другом.

Иммуногистохимическое исследование позволило проследить изменение фенотипических особенностей опухолевых клеток в процессе ЭМТ.

Во всех случаях с распространенной ЭМТ были опухолевые клетки со сниженной экспрессией цитокератинов, вплоть до потери ее. В обособленных, часто вытянутых, фибробластоподобных опухолевых клетках среди стромы экспрессия панцитокератина AE1/AE3 сохранялась в части их, подчеркивая эпителиальную природу фибробластоподобных клеток, в других подобных – резко снижалась и даже отсутствовала. С разной степенью выраженности панцитокератин экспрессировался в участке мелкоклеточного рака и полностью отсутствовала экспрессия в рядом расположенных преимущественно крупных перстневидных клетках. В отдельных участках той же опухоли в подслизистой основе в большинстве вытянутых фибробластоподобных опухолевых клеток сохранялась экспрессия панцитокератина и не сохранялась лишь в небольшом числе их. Но по морфологии они неотличимы от многих рядом расположенных вытянутых клеток с такими же заостренными концами ядер, но не экспрессирующие цитокератин. В этой ситуации нельзя решить, являются ли последние фибробластами, или это клетки с полной ЭМТ, уже потерявшие способность к экспрессии цитокератина.

Следовательно, отмечается неравномерность вовлечения в процесс ЭМТ опухолевых клеток, некоторое несоответствие отдельных признаков ЭМТ: обособление, изменение формы опухолевых клеток может не сопровождаться исчезновением экспрессии эпителиальных маркеров. По мере инвазии опухоли из слизистой оболочки в глубокие слои стенки желудка, очевидно, нарастает выраженность ЭМТ, все большее число опухолевых клеток теряет экспрессию цитокератинов.

В 4-х из 6-ти наблюдений диффузного типа рака желудка четко обнаруживалась экспрессия соединительнотканного маркера виментина во многих опухолевых клетках - полиморфных, отросчатых, и даже в мелких группах их. Однако в 2 наблюдениях невозможно со всей определенностью говорить об экспрессии виментина в опухолевых клетках, т.к. вытянутые, фибробластоподобные опухолевые клетки становятся плохо отличимыми от фибробластов по морфологии.

В случаях кишечного типа рака желудка с очаговой ЭМТ в участках высокодифференцированной аденокарциномы сохраняется экспрессия панцитокератина AE1/AE3, в участках, где от опухолевых желез отходят тяжи опухолевых клеток отмечается снижение экспрессии его. Интересно, что в очагах тяжей клеток отходящих от желез и единичных клетках, много опухолевых клеток с экспрессией мутантного p53. Экспрессия виментина в опухолевых клетках кишечного типа рака не обнаружена.

В случаях смешанного рака желудка с очаговой

ЭМТ отмечалось снижение экспрессии цитокератинов, чаще цитокератина 18 в тяжках клеток, вытянутых обособленных клетках, в отдельных крупных опухолевых клетках, иногда отросчатых появлялась и экспрессия виментина. Интересно, что в одном случае в опухолевых клетках обнаружена экспрессия глиального фибриллярного кислого протеина.

Таким образом, иммуногистохимическое исследование подтвердило верность признаков ЭМТ, определяемых при обычной окраске гематоксилином и эозином: обособление опухолевых клеток, приобретение ими отросчатой, фибробластоподобной формы, инвазия их в строму. Кроме того, иммуногистохимическое исследование позволяет оценивать глубину, полноту ЭМТ: сопровождается ли она только потерей эпителиальных признаков, или и приобретением мезенхимальных, а также ряд других особенностей ЭМТ в каждом конкретном случае. Например, снижение пролиферативной активности опухолевых клеток, появление иммуносупрессии в опухоли, что может быть теоретической основой разработки подходов к терапии различных форм рака желудка.

Наконец, претерпевшие ЭМТ клетки приобретают свойства стволовых клеток, мезенхимальный фенотип в раковых стволовых клетках сохраняет плюрипотентность их, способность к дифференцировке в разных направлениях [11].

В слизистой оболочке желудка стволовые клетки могут дифференцироваться в направлении покровно-язвенного и железистого эпителия, который в норме может содержать, кроме муцин-продуцирующих клеток, пепсин-продуцирующие, париетальные и нейроэндокринные клетки. В этой работе оценивали нейроэндокринную дифференцировку в опухолях, подразделив материал на эндокринноклеточные раки (ЭКР), когда большинство опухолевых клеток имеют разной степени выраженности (слабое, умеренное и выраженное) накопление в цитоплазме гранул, серебрищихся по Гримелиусу или экспрессирующих хромогранин А, нейронспецифическую энолазу, гастрин, и опухоли с очагами эндокринной дифференцировки (ЭКД) или единичными разбросанными опухолевыми клетками с ЭКД. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

**Частота появления и выраженности эндокринноклеточной дифференцировки в зависимости от наличия и распространенности эпителиально-мезенхимальной трансформации в раке желудка**

Характеристика ЭМТ		ЭКР	Очаговая ЭКД	Нет ЭКД	всего
Распространённая ЭМТ	случаи	27	4	-	31
	%	87,1	12,9	-	100
Очаговая ЭМТ	случаи	10	15	3	28
	%	35,7	53,7	10,6	100
Нет ЭМТ	случаи	1	5	4	10
	%	10	50	40	100

Таким образом, при распространенной ЭМТ во всех случаях встречается нейроэндокринная дифференцировка, при этом в большинстве случаев это были эндокринноклеточные раки (87,1%); при очаговой ЭМТ чаще встречается очаговая ЭКД или ЭКД в единичных клетках, редко отсутствие признаков ЭКД; при отсутствии ЭМТ очень редко (1 случай из 10) встретился ЭКР, в половине случаев очаговая ЭКД, и значительное число случаев (4 из 10) было с отсутствием признаков ЭКД. Следовательно, имеется связь между наличием и распространенностью ЭМТ и частотой и выраженностью эндокринной дифференцировки в опухолевых клетках. Таким образом, ЭМТ способствует развитию разного направления дифференцировки опухолевых клеток – кроме продукции ими муцина наличие и нейроэндокринных гранул. Интересно, что во многих случаях перстневидноклеточного рака в центре клеток имеется вакуоль муци-

на, а в цитоплазме вокруг – нейроэндокринные гранулы. Такие клетки-химеры очень редко встречаются в неопухолевых клетках слизистой оболочки желудка.

Проведенное исследование показало, что в большинстве случаев многие наиболее важные морфологические признаки ЭМТ можно увидеть уже при обычной окраске препаратов гематоксилином и эозином при рутинной диагностике на биопсийном и операционном материале. Но в части случаев поиск других доказательств ЭМТ требует более сложных методов морфологического исследования.

Диффузный тип рака желудка отличается от кишечного и смешанного по частоте и распространенности ЭМТ, что позволяет предполагать различия путей онкогенеза в них, возможно, и характера предраковых изменений с последующим включением различных путей сигнальной трансдукции и генети-

ческих программ [5, 12]. Это, очевидно, лежит в основе разного биологического поведения кишечного и диффузного типов рака желудка. В кишечном типе рака желудка более половины случаев (55,6%) (включая случаи с ЭМТ) характеризовались высокой пролиферативной активностью, тогда как в диффузном раке во всех случаях она была минимальной. Зато в диффузном раке желудка гораздо чаще, чем в кишечном обнаруживалась инвазия сосудов опухолью.

Интересные данные на очень большом материале получены проф. Садчиковым В.Д. и Ищенко С.В. Уже в случаях раннего рака метастазирование его обнаруживается при меньшей площади опухоли в случаях диффузного рака по сравнению с кишечным, т.е. последний быстрее растет, а первый раньше метастазирует, что вполне соответствует полученным нами данным о частоте ЭМТ и его влиянии на биологическое поведение этих основных гистологических форм рака желудка.

Возникновение ЭМТ обусловлено сигналами, поступающими в опухолевые клетки из микроокружения и зависит от воспаления, действия активных форм кислорода, гипоксии. При инвазии сосудов, заносе опухолевых клеток в другие органы с иным микроокружением возможен противоположный процесс – мезенхимально-эпителиальная трансформация (МЭТ) [7]. Таким образом, получив с помощью ЭМТ ряд преимуществ, способствующим инвазивному росту и метастазированию, опухолевые клетки в иных условиях микроокружения претерпевают МЭТ, т.е. возвращаются к эпителиальному фенотипу, и, очевидно, приобретают способность к высокой пролиферативной активности и быстрому росту в метастазах.

#### ВЫВОДЫ

1. Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) встречается с разной частотой и распространенностью в основных гистологических типах рака желудка. Чаще всего распространенная ЭМТ встречается в диффузном типе рака желудка (85,7%), редко в смешанном и кишечном. Очаговая ЭМТ чаще встречается в смешанном (81,8%) и кишечном (61,5%) типах рака желудка. Отсутствие ЭМТ отмечено только в кишечном (30,7%) и смешанном (20%) типах.

2. Частота и распространенность морфологических признаков ЭМТ, как правило, соответствует одновременному действию многих генетических программ, но в отдельных случаях имеются отклонения от общей закономерности, при наличии одних признаков (например, обособление клеток), другие (например, изменение формы клеток, экспрессия виментина) могут отсутствовать.

3. Многие признаки ЭМТ можно распознать при рутинной окраске гематоксилином и эозином (обособленность клеток, изменение формы их, снижение митотической активности, иммуносупрессия), для выявления других необходимы дополнительные ме-

тоды исследования, в частности, иммуногистохимические.

4. Появление ЭМТ в опухолях, даже очаговой, резко увеличивает частоту инвазии сосудов в результате изменения формы и увеличения подвижности опухолевых клеток, усиления ангиогенеза, иммуносупрессии.

5. Основные гистологические формы рака желудка – диффузный и кишечный – резко отличаются друг от друга факторами агрессии: кишечный тип характеризуется большей частотой случаев с высокой пролиферативной активностью клеток, и, очевидно, более быстрым ростом; диффузный – большей инвазивностью, что требует различных подходов к терапии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Barralo-Gimeno A., Nieto M.A. The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer // *Development*. – 2005. – V. 132. – P.3151-3161.
2. Cano A. The transcription factor Snail controls epithelial-mesenchymal transition by repressing E-cadherin expression // *Nat. Cell. Biol.* – 2000. – V. 2. – P. 76-83.
3. Christiansen J.J., Rajasekaran A.K. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis // *Cancer Res.* – 2006. – V. 66, N17. – P. 8319-8326.
4. Ikenouchi, J., Matsuda, M., Furuse, M. et al. 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
5. Moreno-Bueno Gema, Eva Cubillo, David Sarrio et al. 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
6. Nieto M.A. The SNAIL superfamily of zinc – finger transcription factors // *Molecular cell biology*. – 2002. – V3. – p. 155 – 166.
7. Nieto M.A. Epithelial – Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives // *Int J Dev. Biol.* – 2008. – V52. – p. 1-7.
8. Nieto MA. Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives // *Int J Dev Biol.* 2009 - 53(8-10) - 1541-7.
9. 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.
10. Rosivatz, E., Becker, I., Specht, K. et al. Differential Expression of the Epithelial-Mesenchymal Transition Regulators Snail, SIP1, and Twist in Gastric Cancer. // *Am. J. Pathol.* – 2002- V 161, -P 1881-1891
11. Thiery J.P., Acloque H., Huang R.Y. et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease // *Cell.* 2009 - 139(5) - 871-90.

12. Wang H.D., Ren J., Zhang L. CDH1 germline mutation in hereditary gastric carcinoma // *World J. Gastroenterol.* – 2004. – V. 10, N21. – P. 3083-3093/

13. Weinberg R.A. Mechanisms of malignant progression // *Carcinogenesis.* – 2008. – V 29, №6. – 1092–1095.

14. Василенко И.В., Брук Б.Б., Гульков Ю.К. и др.

Эпителиально-мезенхимальная и другие трансформации в норме и патологии (обзор литературы и собственные исследования) // *Патология.* – 2009. – Т.6, №2. – С. 4-10.

15. Ищенко С.В., Садчиков В.Д. Динамика основных типов рака желудка в хронологическом аспекте // *Медицина сегодня и завтра.* – 2004. - №4. – С. 151-154.