

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПАТОГЕНЕЗА САРКОМЫ ЮИНГА

Юрченко Д.Ю.^{1,2}, Бурцев Д.В.^{1,3}, Кузнецов С.А.², Сагакянц А.Б.², Мкртчян Г.А.², Старжецкая М.В.², Беспалова А.И.², Поповян О.П.^{1,2}, Куштова Л.Б.^{1,2}

¹Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, e-mail: dasha_yurchenko_2013@mail.ru;

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», Ростов-на-Дону, e-mail: kuznecov1978@mail.ru;

³Государственное автономное учреждение Ростовской области «Областной консультативно-диагностический центр», Ростов-на-Дону, e-mail: dr-burtsev@mail.ru

В последнее время все больше внимания уделяется исследованиям, направленным на выявление путей реализации саркомагенеза и механизмов метастазирования опухолевых клеток при саркоме Юинга (СЮ) у детей и подростков. Разрабатываются новейшие терапевтические подходы в комплексном лечении больных с СЮ с учетом молекулярно-генетических особенностей развития и прогрессии данной опухоли, основываясь на наиболее значимых научных исследованиях и разработках. Ввиду новейших научных исследований установлен ряд новых высокоспецифичных маркеров СЮ, коррелирующих как с различной агрессивностью опухолевого процесса, так и локализацией метастатических очагов. Так, в зависимости от типа транслокации формируются различные химерные онкопротеины EWS-FLI1 type 1, EWS-ERG, а также EWS-FLI type 2, являющиеся одними из ключевых регуляторов таких обратимых процессов, как мезенхимально-эпителиальный (МЭП) и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), которые, в свою очередь, определяют процессы диссеминации и инвазии опухолевых клеток СЮ. Наряду с этим свою гиперэкспрессию и высокую специфичность в опухолевых клетках СЮ показали: регулятор клеточного цикла SOX2, хондромодулин CHM1, а также транскрипционный фактор NKX2-2, причем как в первичной опухоли, так и в метастатических очагах костного мозга, легочной ткани. Таким образом, изучение новых маркеров и механизмов метастазирования СЮ является перспективным направлением в усовершенствовании диагностики заболевания и разработке персонализированной терапии с учетом агрессивности опухолевого процесса.

Ключевые слова: саркома Юинга, химерный онкопротеин, эпителиально-мезенхимальный переход, мезенхимально-эпителиальный переход, SOX2, NKX2-2, CHM1.

SOME FEATURES OF THE MOLECULAR GENETIC PATHOGENESIS OF EWING'S SARCOMA

Yurchenko D.Y.^{1,2}, Burtsev D.V.^{1,3}, Kuznetsov S.A.², Sagakyants A.B.², Mkrтчyan G.A.², Starzhetskaya M.V.², Bespalova A.I.², Popovyan O.P.^{1,2}, Kushtova L.B.^{1,2}

¹Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, e-mail: dasha_yurchenko_2013@mail.ru;

²Rostov Cancer Research Institute, Rostov-on-Don, e-mail: kuznecov1978@mail.ru;

³State Autonomous Institution of the Rostov Region "Regional Consultative and Diagnostic Center", Rostov-on-Don, e-mail: dr-burtsev@mail.ru

In recent years, more and more attention is paid to research aimed at identifying ways to implement sarcomagenesis and mechanisms of metastasis of tumor cells in Ewing's Sarcoma (ES) in children and adolescents. The latest therapeutic approaches in the complex treatment of patients with ES are developed taking into account the molecular genetic features of the development and progression of this tumor, based on the most significant research and development. In view of the latest scientific research, a number of new highly specific markers of ES correlated with different aggressiveness of the tumor process and localization of metastatic foci were established. Thus, depending on the type of translocation, various chimeric oncoproteins (EWS-FLI1 type 1, EWS-ERG, as well as EWS-FLI type 2) are formed. They are one of the key regulators of such reversible processes as mesenchymal-epithelial (MEP) and epithelial-mesenchymal transition (EMP), which in turn determine the processes of dissemination and invasion of ES tumor cells. Along with this, cell cycle regulator SOX2, chondromodulin CHM1, as well as transcription factor NKX2-2, have shown their hyperexpression and high specificity in ES tumor cells, both in the primary tumor and in case of metastatic spread to bone marrow and lung tissue. Therefore, studying new markers and mechanisms of ES metastasis is a prospective direction in improving the diagnostics of the disease and elaborating a personalized therapy taking into account the aggressiveness of the tumor process.

Keywords: Ewing's sarcoma, chimeric oncoprotein, epithelial-mesenchymal transition, mesenchymal-epithelial transition, SOX2, NKX2-2, CHM1.

В последнее десятилетие особенное внимание в ряде новейших исследований уделяется клеточным и молекулярным маркерам, которые непосредственно характеризуют фундаментальные биологические свойства различных опухолей.

Так, на пороге второго тысячелетия в научной литературе стал общепризнанным термин «опухоль семейства саркомы Юинга» (ОССЮ), объединяющий как классическую костную форму саркомы Юинга, так и ее мягкотканную форму – периферическую примитивную нейроэктодермальную опухоль (ПНЭО) и злокачественную опухоль торакопультмональной зоны (опухоль Аскина) [1; 2]. Однако первое упоминание о заболевании было еще в 1921 году, когда J. Ewing впервые дал описание злокачественной опухоли костной ткани, состоящей из широких небольших, округлых синих клеток, позже получившей название «Саркома Юинга» (СЮ) [3].

В настоящее время полученные результаты исследований позволяют рассматривать СЮ, встречающуюся преимущественно у пациентов детского и подросткового возраста, характеризующуюся высокоагрессивным течением, а также наличием ряда тканеспецифических маркеров [4; 5], в качестве одной из высокозлокачественных мезенхимальных опухолей костей и мягких тканей [4]. Высокоагрессивный характер течения данной опухоли обуславливает наличие метастазов у 25-30% первичных больных на момент установления диагноза [3].

Научные открытия последних десятилетий внесли огромный вклад в понимание механизмов возникновения опухолевых клеток СЮ, однако в настоящее время все же остается ряд существенных малоизученных вопросов.

Общеизвестным является тот факт, что патоморфологические особенности ОССЮ, выявляемые при гистологическом исследовании, не всегда могут являться достаточными для точной постановки диагноза [5; 6], что в свою очередь диктует необходимость для поиска новых высокоспецифичных иммуногистохимических и цитогенетических маркеров, а также определения их прогностической значимости для данного семейства опухолей.

В литературе опубликовано большое число научных работ, направленных на изучение особенностей метаболизма костной ткани в норме и при различных видах опухолевых поражений костей, с целью определения новых молекулярно-генетических маркеров опухолевого роста. Однако наряду с этим механизмы, отвечающие за способность опухолевых клеток к инвазии в окружающие ткани, а также диссеминации с образованием вторичных- метастатических очагов опухолевого роста изучены мало. Кроме того, несмотря

на большой прогресс в лечении различных форм СЮ, достигнутый в течение последних лет, показатели выживаемости по-прежнему остаются крайне низкими даже у пациентов с локализованными формами СЮ [7]. Возможно, при более детальном изучении данных ключевых вопросов появится возможность в высокоточной постановке диагноза и проведении своевременной персонифицированной этиотропной и патогенетической терапии, препятствующей возникновению, инвазии и диссеминации опухолевого процесса.

Цель исследования – обобщение результатов новейших молекулярно-генетических исследований в области изучения саркомы Юинга по данным мировой литературы.

Материалы и методы исследования. Выполнен критический анализ и обобщение результатов молекулярно-генетических исследований в области изучения саркомы Юинга за последние 10 лет по данным мировой литературы. Поиск публикаций осуществлялся по базам e-library, PubMed, RosOncoWeb, cyberleninka.

Результаты исследования и их обсуждение

Возникновение и развитие опухоли – сложный, многостадийный процесс, в основе которого лежат определенные изменения структурной и функциональной организации генетического аппарата клетки вследствие действия этиологических (канцерогенных) факторов, находящие свое отражение в изменении характера поведения клетки, ее пролиферативной активности и особенностях роста и развития.

Большое количество опухолей характеризуются наличием генных перестроек, играющих драйверную роль в процессах злокачественной трансформации. Наиболее типичным представителем такой группы опухолей является саркома Юинга, патогенез которой связан с транслокацией гена EWSR1 и семейства генов ETS. Изучение ОССЮ, в частности саркомы Юинга, посредством секвенирования показало, что присутствие диагностических перестроек в этой широкой группе опухолей примерно в 40% случаев является проявлением феномена хромоплексии – катастрофического геномного события, приводящего к одномоментным множественным разрывам хромосом по всему геному или во многих хромосомах, что ведет к появлению десятков различных транслокаций [8].

Некоторые авторы полагают, что саркомы Юинга, чей патогенез формируется по механизму хромоплексии, обладают большей иммуногенностью в сравнении с опухолями, для которых характерно появление изолированной транслокации EWSR1-ETS [9; 10]. Данная мысль может быть использована как в объяснении общих механизмов возникновения и развития СЮ, так и в ожидаемых результатах лечения – повышенная иммуногенность опухоли может являться основой реализации противоопухолевого иммунного ответа, изучение возможностей коррекции которого является одной из составляющей иммунотерапии новообразований.

В опухолевых клетках СЮ отмечается ряд подобных генетических изменений, что сопровождается появлением соответствующих онкопротеинов, вносящих вклад в злокачественные характеристики неоплазмы. Обнаружение данных генетических изменений и/или их результатов – онкобелков, позволяет осуществлять диагностику заболевания, разрабатывать стратегии лечения, оценивать его эффективность и строить прогнозы.

Учитывая данные новейших исследований в области диагностики СЮ, к наиболее специфичным маркерам данного заболевания относят EWS-FLI1 type 1, EWS-FLI type 2, EWS-ERG, NKX2-2, MIC2(CD99).

EWS-FLI1 type1 - химерный онкопротеин, являющийся высокоспецифичным и патогномичным для клеток СЮ, возникающий в результате слияния экзона 7 гена *EWS* и фактора транскрипции семейства Ets, чаще всего 6 экзона гена *FLI1*, в результате хромосомной транслокации (t11;22) (q24; q12). Считается, что слияние генов *EWS-FLI1* играет главную роль в саркомагенезе Юинга, и их транслокация составляет до 85% всех случаев заболевания СЮ. Причинный онкопротеин взаимодействует с промоторными участками соответствующих генов, изменяя их экспрессию, которые в свою очередь принимают непосредственное участие в неопластической трансформации опухолевых клеток, и необходим для пролиферации и других проявлений туморогенности клеток саркомы Юинга, в частности [11-13]. Однако наряду с этим имеется множество доказательств, говорящих о том, что один только EWS-FLI1 type 1-онкопротеин не может полностью объяснить патогенез развития саркомы Юинга. Было доказано, что EWS-FLI1 type1 коррелирует с более благоприятным прогнозом течения заболевания и встречается, как правило, у пациентов, имеющих локализованную форму СЮ [5; 11; 14].

EWS-FLI1 type 2 - это онкопротеин, образующийся при слиянии 7 экзона гена *EWS* и 5 экзона гена *FLI1*. Экспрессия данного типа белка встречается так же часто в клетках СЮ, как и экспрессия химерного онкобелка 1 типа, и коррелирует с менее благоприятным прогнозом течения саркомы Юинга. Некоторые авторы полагают, что данный онкопротеин участвует в регуляции транскрипции опухолевых клеток, а также в ингибировании апоптоза [5; 12; 15].

EWS-ERG - это химерный онкобелок атипичного характера, также встречающийся в опухолевых клетках СЮ, возникающий при транслокации t (21;22), в частности при слиянии 7 экзона гена *EWS* хромосомы 21 и 6 экзона гена *ERG* хромосомы 22 семейства Ets. Однако его экспрессия отмечается лишь в небольшом проценте случаев заболевания СЮ. EWS-ERG-онкопротеину отводят главную роль в прогрессировании саркомы Юинга [11; 12; 14].

p30/32MIC2 (CD99) – продукт онкогена MIC-2, представляющий собой поверхностный гликопротеин, высокоспецифичная экспрессия которого в отношении

опухоли СЮ достоверно доказана. CD99 экспрессируется практически в 100% клеток СЮ [16-18]. Определение его экспрессии в клетках опухоли является прямым подтверждением клинко-рентгенологического диагноза саркомы Юинга [17-19].

NKX2-2-ген - это член семейства гомеобоксных генов NK2 (*Drosophila* NK-homeobox genes.), который также является специфичным для клеток нейроэктодермальной природы и выявляется в различных клетках организма человека (клетки ЦНС, α - и β -клетки островков поджелудочной железы). В настоящее время имеются данные о том, что NKX2-2 является EWS/FLI-регулируемым геном и необходим для онкогенной трансформации клеток в этой опухоли [20-22]. Кроме того, существуют данные о том, что определение экспрессии гена NKX2-2 в диагностических целях позволяет с высокой точностью выявлять метастатическое поражение костного мозга при СЮ [20]. Данный маркер может быть использован для оценки поражения костного мозга у пациентов с различным генетическим профилем, в частности как у пациентов без выявленных перестроек генов EWS, FLI, так и с наличием атипичных перестроек генов (EWS, ERG) [21].

Однако стоит заметить, что ни NKX2-2, ни CD99 как отдельно взятые маркеры не являются специфичными [17; 18; 23], но при их сочетании диагностическая специфичность повышается [24].

Регуляция мезенхимально-эпителиального перехода и его роль в прометастатическом потенциале СЮ

Современные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что для успешного метастазирования опухолевая клетка должна обладать как эпителиальными, так и мезенхимальными свойствами, что способствует росту опухолевых клеток, их инвазивной и миграционной способности.

Ученые придерживаются мнения о том, что в основе опухолевой прогрессии лежит такое явление, как «Эпителиально-мезенхимальный переход» (ЭМП, Epithelial-mesenchymal transition, EMT). Это явление было впервые описано Элизабет Хей (E.D. Hay) в 1995 году, исследовавшей его в курином эмбрионе и убедительно продемонстрировавшей ЭМП как особую морфологическую перестройку, которая определяет ряд ключевых стадий формирования и обособления эмбриональных тканей [25-27].

В соответствии с современными данными выделяют несколько типов эпителиально-мезенхимального перехода:

- **1 тип ЭМП** реализуется в эмбриогенезе посредством участия в процессах гастрюляции и миграции клеток, необходимых для формирования различных тканей, органов и структур организма;

- **2 тип ЭМП** лежит в основе как репаративных посттравматических процессов при

заживлении ран, так и в основе заболеваний, сопровождающихся фиброзом органов (чаще всего при фиброзе почек и легких);

- **3 тип ЭМП** встречается при прогрессии эпителиальных опухолей и способствует приобретению опухолевыми клетками прометастатического потенциала и свойств опухолевых стволовых клеток.

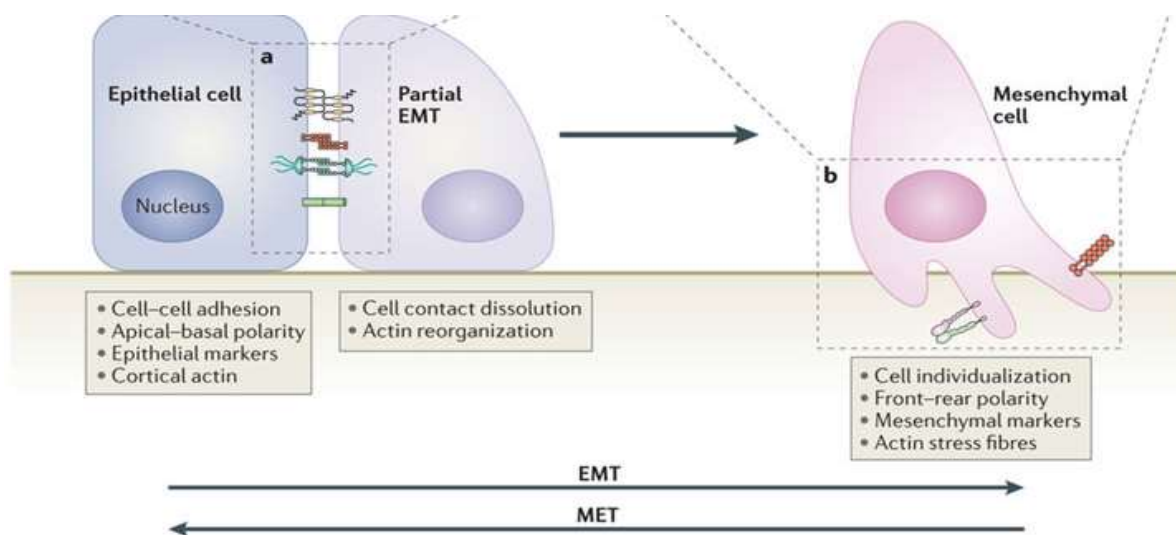
Однако при саркоме Юинга представляется наиболее интересным процесс, обратный ЭМП - мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП).

МЭП - это обратимый процесс, который участвует в миграции клеток и закладке тканей в период эмбриогенеза. В норме МЭП отвечает за механизм образования вторичного эпителия из мигрировавшей в нужное место мезенхимы. В настоящее время все чаще высказывается мнение, что ЭМП необходим опухолевым клеткам для обособления от первичной опухоли, инвазии в окружающие ткани и последующей диссеминации, в то время как возврат опухолевых клеток к эпителиальному фенотипу посредством МЭП необходим для начала роста метастазов [26; 28; 29]

Основными участниками различных стадий ЭМП и МЭП являются регуляторы как эпителиального, так и мезенхимального фенотипов (рисунок). К наиболее значимым относятся [27; 30]:

- белки, отвечающие за эпителиальный фенотип - E-кадгерин, клаудины, окклюдины;
- белки, отвечающие за мезенхимальный фенотип - N-кадгерин, виментин, фибронектин;
- ферменты – матриксные металлопротеиназы;
- транскрипционные факторы - белки различных семейств: ZEB1, ZEB 2, Twist, Slug, Snail [31; 32].

По мере приобретения мезенхимальными клетками эпителиальных свойств, что имеет непосредственную связь с формированием метастатических очагов, отмечается увеличение экспрессии E-кадгерина, клаудинов, окклюдина и уменьшение экспрессии таких белков: N-кадгерина, виментина, фибронектина, ферментов - матриксных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-9), белков - ZEB1, ZEB2, Twist, Slug, Snail [26; 33; 34].



Взаимообратимые процессы эпителиально-мезенхимального и мезенхимально-эпителиального переходов

Матриксные металлопротеиназы (ММП) - это семейство внеклеточных, цинк- и кальцийсодержащих протеиназ. К настоящему времени известно 25 видов ММП. Матриксные металлопротеиназы являются активными участниками некоторых физиологических процессов ангиогенеза, морфогенеза, а также эмбриогенеза. Однако вместе с этим известно, что ММП непосредственно участвуют в процессах развития различных злокачественных опухолей, воздействуя на различные пути передачи сигнала в клетке, на межклеточные взаимодействия, посредством чего принимают участие в инвазивном росте и метастазировании опухолей [35]. Непосредственно в опухолевых тканях СЮ достоверно выявлен повышенный уровень экспрессии ММП-2, -9 и повышенный уровень их тканевого ингибитора (ТИМП-1), что способствует лизису базальной мембраны и высвобождению опухолевых клеток, что является одним из факторов, способствующим раннему метастазированию СЮ [34; 35].

Ученые придерживаются мнения о том, что метастазы СЮ состоят в основном из двух типов клеток: преимущественно эпителиальных, связанных между собой межклеточными сепками в организованную структуру, и мезенхимальных клеток, не имеющих клеточных контактов и способных мигрировать как отдельные клетки. В то время как первичная опухоль имеет 3 типа клеток: преимущественно опухолевые клетки с мезенхимальным фенотипом, клетки опухоли, имеющие пограничное состояние и обладающие некоторыми свойствами стволовых клеток, а также клетки с эпителиальным фенотипом [26; 30; 34].

Клетки СЮ проявляют как мезенхимальные, так и эпителиальные особенности. Имеются данные о том, что белки ZEB1, ZEB2, Twist, Slug, Snail, являющиеся

транскрипционными факторами генов, кодирующих белки плотных контактов, непосредственно осуществляют прямую регуляцию E-кадгерина, за счет чего могут изменять фенотип опухолевой клетки. Эти процессы в свою очередь определяют переход мезенхимального фенотипа в эпителиальный в клетках СЮ, что повышает метастатический потенциал опухоли в целом [36].

Эпителиальный кадгерин (CDH1 или E-кадгерин) - это трансмембранный гликопротеин, относящийся к семейству классических кадгеринов, который экспрессируется в различных тканях и играет роль в Ca^{2+} -зависимой межклеточной адгезии. E-кадгерин обеспечивает плотный межклеточный контакт на базальных и боковых поверхностях клеток и является отличительным признаком эпителиальных клеток [26; 31]. Следует отметить, что, по данным различных авторов, при саркомагенезе происходит как подавление экспрессии E-кадгерина, участвующего в образовании плотных контактов между эпителиоцитами, так и его активация. Регуляция данного пускового процесса обуславливает инвазию и миграцию клеток СЮ с формированием метастатических очагов [31; 37].

Так называемая межклеточная адгезия – это обязательное условие для сохранения упорядоченной структуры ткани и поддержания взаимосвязи между клетками. E-кадгерин играет непосредственную роль в ЭМП и МЭП, которые становятся неконтролируемыми при злокачественных новообразованиях. Кроме этого, он может выступать в качестве супрессора при опухолевом росте и опухолевой прогрессии, что имеет большое значение в течении опухолевого процесса СЮ [26; 31; 34].

Клаудины представляют собой наиболее крупное семейство белков, которые являются важными компонентами тесных межклеточных контактов, где они формируют параклеточный барьер. В организме человека семейство клаудинов представлено 24 белками, и существуют данные о том, что некоторые из них являются высокоспецифичными для различных тканей и органов человека. Их структура представлена четырьмя трансмембранными доменами, двумя внеклеточными и одной внутриклеточной петлями, а также N-концевой и С-концевой частями, расположенными в цитоплазме. Все это позволяет им воспроизводить так называемые гексамерные связи, посредством чего участвовать не только в организации клеточных связей, но и в транспорте ионов и молекул в клетку. Профиль экспрессии клаудинов, их типы и распределение в мембранах клеток различных тканей имеет свои особенности, определяющие характер взаимодействий клеток друг с другом и с факторами межклеточного вещества, это в свою очередь может выступать специфической характеристикой параметров метастатической ниши в определенных тканях и органах [38].

Окклюдины являются одними из представителей групп белков плотных контактов и

занимают второе место по распространенности в плотных контактах после семейства клаудинов. Строение и основные функции семейства окклюдина практически совпадают с таковыми у семейства клаудинов. Кроме того, они регулируют транспорт некоторых гидрофильных молекул с небольшой молекулярной массой, регулируют прохождение нейтрофилов через эпителий и наряду с этим являются непосредственным участником ЭПМ и МЭП [31; 39; 40].

Виментин и фибронектин - компоненты цитоскелета и внеклеточного матрикса [19; 26; 41] - это белки, отвечающие за мезенхимальный фенотип эпителиоцитов и играющие одну из ключевых ролей в МЭП. Экспрессируются практически во всех клетках СЮ, способствуя миграции и метастазированию опухолевых клеток [26; 31; 34].

Кроме вышеуказанных маркеров, обращает на себя внимание наличие в ткани СЮ целого ряда молекул, характерных для особой субпопуляции опухолевых клеток (ОСК), играющих важную роль в поддержании опухоли, процессах ее метастазирования, химио- и радиорезистентности.

SOX2 и CNM1 как регуляторы пролиферации опухолевых клеток

SOX2 – транскрипционный фактор самообновления и поддержания недифференцированных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК). Экспрессия SOX2 возникает при многих злокачественных опухолях, и его роль как онкопротеина была неоднократно подтверждена в ходе многочисленных исследований. В частности, при СЮ SOX2 активно участвует в пролиферации опухолевых клеток, являясь мишенью для EWS-FLI1, посредством чего осуществляется регуляция дифференцировки опухолевой клетки в фазах клеточного цикла и регулируется апоптоз. Таким образом, SOX2 увеличивает период жизни опухолевых клеток СЮ путем стимулирования прогрессии клеточного цикла и ограничения апоптоза [42].

CNM1 (хондромодулин 1, CNMD) – эндохондральный белок, в нормальных условиях экспрессирующийся в хряще и влияющий на развитие и пролиферацию хондроцитов. Однако сверхэкспрессия CNM1 отмечалась в образцах метастазов в легочную ткань пациентов с СЮ по сравнению с образцами, полученными из разных локализаций костей. Это указывает на то, что CNM1 участвует в инвазии и метастазировании опухолевых клеток в легкие и имеет важное значение для диссеминации опухолевого процесса [43].

Выводы

Изучение молекулярно-генетических особенностей патогенеза локальных и метастатических форм СЮ остаётся перспективным направлением для медико-биологических исследований и должно быть направлено на понимание механизмов инвазии и диссеминации опухолевых клеток, что в свою очередь поможет в создании

высокоэффективной терапии, препятствующей развитию и метастазированию опухолевого процесса.

Список литературы

1. Алиев М.Д., Иванова Н.М., Дзампаев А.З. Злокачественные опухоли костей. Руководство под редакцией М.Д. Алиева. М.: Издательская группа РОНЦ, 2008. С. 295- 356.
2. Berghuis D., de Hooge A.S., Santos S.J. Reduced human leukocyte antigen expression in advanced- stage Ewing sarcoma: implications for immune recognition. *The Journal of Pathology*. 2009. Vol. 218. P. 222-231. DOI: 10.1002/path.2537.
3. Семенова А.И. Саркома Юинга: Характеристика заболевания, особенности диагностики, лечебная тактика // *Практическая онкология*. 2010. Т.11. № 1. С.45-52.
4. Буланов Д.В. Актуальные аспекты патоморфологической диагностики опухолей семейства Саркомы Юинга: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Волгоград, 2011. 25 с.
5. Алиев М.Д., Поляков В.Г., Менткевич Г.Л., Маяков С.А. Национальное руководство по детской онкологии. М.: Издательская группа РОНЦ, 2012. 684 с.
6. Hancock J.D., Lessnick S.L. A transcriptional profiling meta-analysis reveals a core EWS-FLI gene expression signature. *Cell Cycle*. 2008. Vol. 7. P. 250-256.
7. Кушчинский Н.Е., Бабкина И.В., Соловьев Ю.Н., Булычева И.В., Мачак Г.Н. Молекулярно-биологические маркеры в сыворотке крови больных первичными опухолями костей // *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи*. 2009. № 1. С. 79-82.
8. Anderson N.D., de Borja R., Young M.D., Fuligni F., Rosic A., Roberts N.D., Hajjar S., Layeghifard M., Novokmet A., Kowalski P.E., Anaka M., Davidson S., Zarrei M., Id Said B., Schreiner L.C., Marchand R., Sitter J., Gokgoz N., Brunga L., Graham G.T., Fullam A., Pillay N., Toretsky J.A., Yoshida A., Shibata T., Metzler M., Somers G.R., Scherer S.W., Flanagan A.M., Campbell P.J., Schiffman J.D., Shago M., Alexandrov L.B., Wunder J.S., Andrulis I.L., Malkin D., Behjati S., Shlien A. Rearrangement bursts generate canonical gene fusions in bone and soft tissue tumors. *Science*. 2018. Vol. 361. no 6405. P. pii: eaam8419.
9. Imielinski M., Ladanyi M. Fusion oncogenes-genetic musical chairs. *Science*. 2018. Vol. 361. no 6405. P. 848–849.
10. Имянитов Е.Н. Фундаментальная онкология в 2018 году: обзор наиболее интересных открытий // *Практическая онкология*. 2019. Т. 20. № 1. С. 1-10.
11. Буланов Д.В., Смирнов А.В., Загребин В.Л. Иммуногистохимические и молекулярно-биологические характеристики опухолей семейства Саркомы Юинга // *Вестник Волг ГМУ*. 2011. Т. 37. № 1. С. 77-79.

12. Elzi D.J., Song M., Houghton P.J., Chen Y., Shiio Y. The role of FLI-1-EWS a fusion gene reciprocal to FLI-1-EWS in Ewing sarcoma. *Genes&Cancer*. 2015. P. 452-461. DOI: 10.18632/genesandcancer.86.
13. Katia Scotlandi, Daniel Remondini, Gastone Castellani, Maria Cristina Manara, Filippo Nardi, Lara Cantiani, Mirko Francesconi, Mario Mercuri, Anna Maria Caccuri, Massimo Serra, Sakari Knuutila, Piero Picci. Overcoming Resistance to Conventional Drugs in Ewing Sarcoma and Identification of Molecular Predictors of Outcome. *Journal of Clinical Oncology*. 2009. Vol. 27. no. 13. P. 2209-2216. DOI: 10.1200/JCO.2008.19.2542.
14. Кушлинский Н.Е., Тимофеев Ю.С. Генетические исследования при опухолях костей // Вестник Тамбовского Университета. Серия естественные и технические науки. 2013. Т. 18. № 6. С. 3265- 3272.
15. Киселев Л.П. Молекулярная диагностика и интенсификация химиотерапии прогностически неблагоприятных форм саркомы Юинга у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Минск, 2007. 21 с.
16. Леенман Е.Е., Кочурова Н.В., Белогурова М.Б., Пожарисский К.М. Иммуногистохимическое исследование мелкоклеточных сарком и факторов (NM23, CD44), прогнозирующих их метастазирование у детей // Архив патологии. 2003. Т. 65. № 1. С. 21-27.
17. Pinto A., Dickman P., Parham D. Pathobiologic Markers of the Ewing Sarcoma Family of Tumors: State of the Art and Prediction of Behaviour. *Sarcoma*. 2010. Vol. 2011. P. 15. DOI: 10.1155 / 2011/856190.
18. Ambros I.M., Ambros P.F., Strehl S., Kovar H., Gadner H., Salzer-Kuntschikl M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumours. Evidence for a common histogenesis of neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration. *Cancer*. 1990. Vol. 67. no. 8. P. 1886–1892.
19. Захарычев В.Д., Ганул А.В., Борисюк Б.О. Орфанные опухоли: опыт диагностики и лечения примитивной нейроэктодермальной опухоли внутригрудной локализации // Онкология. 2017. Т. 19. № 1. С. 75-78.
20. Smith R., Owen L.A., Trem D.J., Wong J.S., Whangbo J.S., Golub T.R., Lessnick S.L. Expression profiling of EWS/FLI identifies NKX2.2 as a critical target gene in Ewing's sarcoma. *Cancer Cell*. 2006. Vol. 9. no. 5. P. 405-416. DOI: 10.1016/j.ccr.2006.04.004.
21. Друй А.Е., Цаур Г.А, Попов А.М., Демина А.С., Ригер Т.О., Тупоногов С.Н., Шориков Е.В., Савельев Л.И., Цвиренко С.В., Фечина Л.Г. Определение экспрессии генов NKX2-2, STEAP1, CCND1 для оценки поражения костного мозга у пациентов с опухолями семейства Саркомы Юинга // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2012. № 4. С. 41-48.
22. Toomey E.C., Schiffman J.D., Lessnick S.L. Recent advances in the molecular pathogenesis

of Ewing's sarcoma. *Oncogene*. 2010. Vol. 29. P. 4504-4516. DOI: 10.1038/onc.2010.205.

23. Колбацкая О.П., Горбунова Т.В., Тупицын Н.Н. Изучение количества CD57+ цитотоксических Т-лимфоцитов костного мозга при развитии мелкокруглоклеточных сарком у детей: ретроспективное когортное исследование // *Онкопедиатрия*. 2018. Т.5. № 1. С. 32–40. DOI: 10.15690/onco.v5i1.1864.

24. Machado I., Yoshida A., López-Guerrero J.A., Nieto M.G., Navarro S., Picci P., Llombart-Bosch A. Immunohistochemical analysis of NKX2.2, ETV4, and BCOR in large series of genetically confirmed Ewing sarcoma family of tumors. *Pathology - Research and Practice*. 2017. Vol. 213. no. 9. P. 1048-1053. DOI: 10.1016/j.prp.2017.08.002.

25. Hay E.D. An overview of epitheliomesenchymal transformation. *Acta Anat (Basel)*. 1995. Vol. 154. no. 1. P. 8-20.

26. Пучинская М.В. Эпителиально-мезенхимальный переход в норме и патологии // *Архив патологии*. 2015. Т. 77. № 1. С. 75-83. DOI: 10.17116/patol201577175-83.

27. Kim S., Lee J.W. Membrane Proteins Involved in Epithelial-Mesenchymal Transition and Tumor Invasion: Studies on TMPRSS4 and TM4SF5. *Genomics Informatics*. 2014. Vol. 12. no. 1. P. 12–20. DOI: 10.5808/GI.2014.12.1.12.

28. Friedl P., Locker J., Sahai E., Segall J.E. Classifying collective cancer cell invasion. *Nature Cell Biology*. 2012. Vol. 14. no. 8. P. 777-783. DOI: 10.1038/ncb2548.

29. Friedl P., Gilmour D. Collective cell migration in morphogenesis, regeneration and cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2009. Vol. 10. no. 7. P. 445-457. DOI: 10.1038/nrm2720.

30. Xin Ye., Robert A. Weinberg. Epithelial–Mesenchymal Plasticity: A Central Regulator of Cancer Progression. *Trends in Cell Biolodgy*. 2015. Vol. 25. no. 11. P. 675-686. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.012.

31. Anushka Dongre, Robert A. Weinberg. New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2018. Vol. 1. DOI: 10.1038/s41580-018-0080-4.

32. Tsai J.H., Donaher J.L., Murphy D.A., Chau S., Yang J. Spatiotemporal regulation of epithelial-mesenchymal transition is essential for squamous cell carcinoma metastasis. *Cancer Cell*. 2012. Vol. 22. no. 6. P. 725-736. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.09.022.

33. Chao Y., Wu Q., Acquafondata M., Dhir R., Wells A. Partial mesenchymal to epithelial reverting transition in breast and prostate cancer metastases. *Cancer Microenvironment*. 2012. Vol. 5. P. 19-28. DOI: 10.1007/s12307-011-0085-4.

34. Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Вторушин С.В., Перельмутер В.М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления // *ACTA NATURAE*. 2015. Т. 7. № 2. С. 18-29.

35. Потеряева О.Н. Матриксные Металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (Обзор литературы) // Медицина и образование в Сибири. 2010. № 5.С. 7.
36. Wiles E.T., Bell R., Thomas D., Beckerle M., Lessnick S.L. ZEB2 Represses the Epithelial Phenotype and Facilitates Metastasis in Ewing Sarcoma. *Genes&Cancer*. 2013. Vol. 4. no 11-12. P. 486-500. DOI: 10.1177 / 1947601913506115.
37. Lamouille S., Xu J., Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2014. Vol. 15. no 3. P. 178-96. DOI: 10.1038/nrm3758.
38. Марков А.Г. Кластеры клаудинов определяют межклеточный транспорт в эпителии // Материалы совещания "Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге"(Санкт-Петербург, 14-15 апреля 2016 г.). СПб.: издательство Арт-Экспресс, 2016. С. 203-206.
39. Furuse M., Hirase T., Itoh M., Nagafuchi A., Yonemura S., Tsukita S., Tsukita S. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *The Journal of Cell Biology*. 1993. Vol. 123. no 6. P. 1777-1788. DOI:10.1083/jcb.123.6.1777.
40. Balda M.S., Matter K. Tight junctions at a glance. *Journal of Cell Science*. 2008. Vol. 121. no 22. P. 3677-3682. DOI:10.1242/jcs.023887.
41. Moll R., Lee I., Gould V.E. Immunocytochemical analysis of Ewing's tumors: patterns of expression of filaments and desmo-somal proteins indicate cell type heterogeneity and pluripotential differentiation. *The American Journal of Pathology*. 1987. Vol. 127. no 2. P. 288-304.
42. Chongmin Ren, Tingting Ren, Kang Yang, Shidong Wang, Xing Bao, Fan Zhang, Wei Guo. Inhibition of SOX2 induces cell apoptosis and G1/S arrest in Ewing's sarcoma through the PI3K/Akt pathway. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2016. Vol. 35. P. 44. DOI: 10.1186/s13046-016-0321-3.
43. Kristina von Heyking, Julia Calzada-Wack, Stefanie Göllner, Frauke Neff, Oxana Schmidt, Tim Hensel, David Schirmer, Annette Fasan, Irene Esposito, Carsten Müller-Tidow, Poul H. Sorensen, Stefan Burdach, Günther H. S. Richter. The endochondral bone protein CHM1 sustains an undifferentiated, invasive phenotype, promoting lung metastasis in Ewing sarcoma. *Molecular Oncology*. 2017. Vol. 11. no 9. P. 1288-1301. DOI: 10.1002 / 1878-0261.12057.