

# РОЛЬ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА В РАЗВИТИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА (обзор литературы)

Шубин В.П.<sup>1</sup>, Шелыгин Ю.А.<sup>1,2</sup>, Сушков О.И.<sup>1</sup>, Цуканов А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «ГНЦК им. А.Н.Рыжих» Минздрава России, г. Москва  
(директор – чл.-корр. РАН, профессор Ю.А.Шелыгин)

<sup>2</sup> ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Москва  
(ректор – академик РАН, профессор Л.К.Мошетова)

*[Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальный переход, колоректальный рак, метастазирование]*

## THE ROLE OF THE EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION IN THE DEVELOPMENT OF COLORECTAL CANCER (review)

Shubin V.P.<sup>1</sup>, Shelygin Yu.A.<sup>1,2</sup>, Sushkov O.I.<sup>1</sup>, Tsukanov A.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> State Scientific Centre of Coloproctology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

*[Key words: epithelial-mesenchymal transition, colorectal cancer, metastasis]*

*Адрес для переписки: Шубин Виталий Павлович, ФГБУ «ГНЦК им. А.Н.Рыжих» Минздрава России,  
ул. Саляма Адиля, д. 2, Москва, 123423; тел.: +7 (499) 199-34-92; e-mail: shwit@mail.ru*

Колоректальный рак (КРР) занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости в России среди всех злокачественных новообразований. По распространенности заболевания (2016 г.) на 100000 населения насчитывается ~238 больных КРР (~61000 среди всего населения России). В 2016 году КРР (морфологически подтверждено 93%) выявлен на I стадии в 10% случаев, на II стадии – в 39% случаев; на III стадии – в 24% случаев; на IV – в 25% случаев и у 2% стадия не установлена. Летальность от данного заболевания составляет 25% [2]. Основная причина высокой летальности – поражение органов метастазами. После оперативного лечения КРР в первые годы наблюдения чаще всего отмечается метастатическое поражение печени (~50%) [7], легких (~20%) [10] и париетальной и висцеральной брюшины (перитонеальный карциноматоз) (5-15%) [9]. Между «крайними» точками сложного процесса метастазирования – инвазией первичной опухоли в окружающие ткани и формированием метастатических фокусов – существует несколько этапов, прохождение которых строго обязательно для развития и последующей прогрессии опухолевого роста: интравазация, выживание и циркуляция в системном кровотоке, экстравазация с последующей колонизацией органов опухолевыми клетками и формирование определяемого клинически мета-

стаза [3]. В этом многоступенчатом процессе важную роль играет эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП).

### ЭМП

Все клетки человека содержат одну и ту же нуклеотидную последовательность в структуре ДНК. Однако функционально клетки могут иметь существенные различия. Одни выполняют секреторную функцию, другие защитную и т.д. Это происходит из-за разной активности генов. В 1991 году Uwe H. Frixen и соавт., изучая клеточные линии карцином человека с разной нозологией (мочевого пузыря, молочной железы, легких и поджелудочной железы) показали, что клетки карциномы с эпителиальным фенотипом не обладают инвазивными свойствами, в то время как с фибробластоидным фенотипом способны к метастазированию. Более того, клетки с фибробластоидным фенотипом не экспрессируют специфическую для эпителиальных клеток белковую молекулу E-cadherin, отвечающую за межклеточную адгезию (способность клеток избирательно связываться между собой) [25]. Позже Nau E.D. предположил, что эпителиальные клетки могут активировать некоторые гены, отвечающие за мезенхимальный фенотип, последние, в свою очередь, отключают гены эпителиального

фенотипа и приобретают механизмы моторики. Это позволяет им взаимодействовать с внеклеточным матриксом через сеть актина. Одним из интересных примеров, который приводится в работе [28] – создание из эпителиальных инвазивных клеток метастатической карциномы с помощью «эпителиально-мезенхимальной трансформации». В настоящее время этот термин используется, как эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП).

ЭМП – это сложный процесс изменения клетками эпителиального фенотипа на мезенхимальный, происходящий в процессе эмбрионального развития, при заживлении ран, а также при ряде патологических процессов [35].

Основными генами, характеризующими эпителиальный фенотип (совокупность признаков эпителия) являются *CDH1*, *OCLN*, *CLDN1*, *CTNNB1*, *LAMA1*, *LAMB1*, *LAMC1*, обуславливающие плотные связи клеток между собой и с базальной мембраной (бесклеточный слой, отделяющий эпителий от соединительной ткани). Эпителиальные клетки не образуют кровеносных сосудов и межклеточные вещества, т.е. клетки примыкают плотно одна к другой [35].

Клетки с мезенхимальным фенотипом характеризуются отсутствием межклеточных взаимодействий между собой, биполярностью (наличие двух полюсов, способных образовывать взаимодействия с другими клетками, в том числе и эпителиальными).

Во время развития ЭМП в клетках опухоли происходит изменение транскрипционного профиля значительного числа генов – гиперэкспрессируются мезенхимальные маркеры – *SNAIL1/2*, *TWIST*, *ZEB1/2*, *VIM* и др. и супрессируются маркеры эпителиального фенотипа – E-cadherin и др. [31,48]. Эпителиальные клетки с изменённым мезенхимальным фенотипом теряют свойства адгезии,

плотные контакты и начинают мигрировать. Чтобы образовать вторичный очаг в органе-мишени, включается альтернативный ЭМП процесс – мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП), в ходе которого мигрировавшие клетки приобретают исходный эпителиальный фенотип (Рис. 1.) [52]. Снижение адгезии между клетками в первичном очаге является одним из главных событий для ЭМП. Можно предположить, что эпигенетические изменения генов в первичной опухоли, в частности *CDH1* и *CTNBB1*, могут быть связаны с мутациями, приводящими к инактивации их продукта – белка. Однако в работе Busch E.L. и соавт. на 13 типах карцином (мочевого пузыря, молочной железы, ободочной/прямой кишки, эндометрия, пищевода, почки, легкого, яичника, поджелудочной железы, простаты, кожи (не меланома), желудка, щитовидной железы) было показано, что соматические мутации в первичной опухоли в этих генах у пациентов с отдаленными метастазами имеют низкую частоту (4% и 1%, соответственно) [18]. Поэтому потеря адгезивных свойств между клетками опухоли не связана с мутациями в генах маркерах эпителиального фенотипа, в частности *CDH1* и *CTNBB1*, а возможно имеет другие эпигенетические и молекулярные проявления или даже комплекс мероприятий.

Все ли клетки инвазивной опухоли толстой кишки с отдаленными метастазами имеют фенотип ЭМП? Для ответа на этот вопрос необходимо понимание строения слизистой оболочки толстой кишки на клеточном уровне. Слизистая оболочка толстой кишки состоит из определенных структурных единиц – либеркюновых крипт, которые представлены разными типами клеток (энтероциты, бокаловидные клетки и т.п.). В исследовании Sadanandam A. и соавт. показано, что из крипты может развиваться 6 подтипов опухолей с разным прогнозом [46]. Самый неблагоприятный прогноз имеют опухоли, развивающиеся из клеток, расположенных на минимальном расстоянии от подслизистого слоя и характеризующиеся высоким уровнем экспрессии генов *SFRP2* и *ZEB1*, а также отличающихся высокой активностью Wnt-пути («стволовоподобный» («stem-like») подтип). В отличие от других подтипов опухолей при «стволовоподобном» («stem-like») подтипе высока вероятность того, что клетки опухоли могут участвовать в процессе ЭМП, так как отличаются высокой экспрессией генов-маркеров, характерных для мезенхимальных клеток.

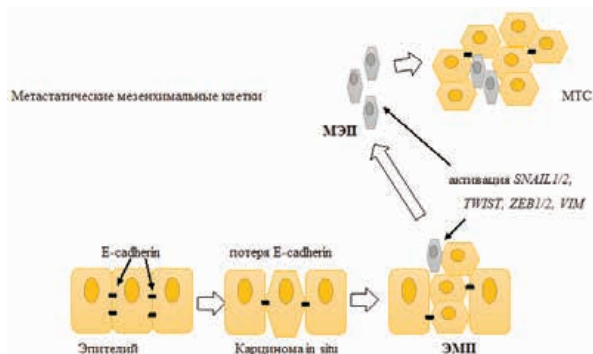


Рисунок 1. Превращение нормального эпителия в злокачественную опухоль с последующим образованием метастаза. ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход; МЭП – мезенхимально-эпителиальный переход; МТС – метастатический узел

### ЭМП И ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ (ЦОК)

В 50-х годах XX века впервые удалось выделить циркулирующие опухолевые клетки из перифери-

ческой крови [23]. ЦОК представляют собой популяцию клеток опухоли, которые попали в кровеносное русло. Следует подчеркнуть, что ЦОК являются гетерогенной популяцией клеток. Поэтому в зависимости от применяемых для их поиска и анализа маркеров могут наблюдаться значительные колебания в их количестве при определении на одних и тех же стадиях развития опухоли. Особый интерес среди ЦОК вызывают так называемые стволовые опухолевые клетки и клетки, прошедшие ЭМП. Предполагается, что именно эти клетки являются основой для развития метастазов при переносе ЦОК с током крови в отдаленные органы, а обнаружение ЦОК напрямую связано с прогнозированием протекания болезни [1]. Присутствие ЦОК в крови свидетельствует о распространении опухолевых клеток гематогенным путем и является прогностическим фактором плохого прогноза для пациентов с колоректальным раком [51]. Количество ЦОК находится в прямой зависимости от маркеров апоптоза (p53) ( $p=0.0383$ ), микрососудистой инвазии (CD31) ( $p=0.00001$ ), ММП-2 ( $p=0.0001$ ) и повышенное их содержание связано с возникновением в более ранние сроки метастазов и рецидивов [6].

#### **ЭМП И МУТАЦИИ В ГЕНАХ СЕМЕЙСТВА RAS И RAF**

Соматические мутации генов семейства RAS (*KRAS*, *NRAS* и *HRAS*) приводят к активации MAPK-пути и как следствие связаны с неконтролируемым ростом клеток, нарушением процесса апоптоза и другими событиями канцерогенеза КРР [58]. MAPK-путь (также известный, как путь Ras-Raf-MEK-ERK) представляется собой цепочку белков в клетке, которая передает сигнал от рецептора на поверхности клетки к ДНК в ядре клетки. Основное число активирующих мутаций при КРР обнаруживают в гене *KRAS* (2, 3 и 4 экзоны) и *NRAS* (2 и 3 экзоны), в 35-46% и в 5-10%, соответственно [8, 12, 14, 32, 56]. Мутации в гене *HRAS* при данной нозологии находят редко, ~ в 1% случаев [20]. Тем не менее на клеточных линиях человека показано, что при мутации этого гена в 12 кодоне опухолевые клетки не отвечают на действие ингибиторов тирозинкиназы (MET ингибиторы) [37].

Из всех генов семейства RAS чаще всего мутации обнаруживают в гене *KRAS* (90-95%) [29, 50]. В исследовании [30] показана зависимость общей выживаемости пациентов с метастатическим КРР от типа мутации. Худший прогноз показали пациенты с мутацией p.G12V (с.35G/T) или p.G12C (с.34G/T) [30]. Считается, что мутация p.G12V (с.35G/T) может индуцировать эпителиально-мезенхимальный переход и усиливать миграцию клеток опухоли [24, 40]. Однако в одной из работ

[16] при использовании ткани колоректального рака, выращенной с помощью мышинных моделей ксенографтов показано, что опухолевые клетки с активированным MAPK путем и высоким уровнем бета-катенина на инвазивном краю опухоли, перестали пролиферировать и подверглись эпителиально-мезенхимальному переходу. Причем не важно, какая мутация в гене RAS присутствовала в опухоли. Более того, опухолевые клетки с RAS мутациями остаются чувствительны к внешним воздействиям, которые могут активировать ген EGFR [16].

Кроме генов семейства RAS и *EGFR*, активация MAPK пути может осуществляться за счет мутирования генов семейства RAF. Известны три гена кодирующие одноименные белки: *ARAF*, *BRAF* и *CRAF*. Ключевым для канцерогенеза злокачественных опухолей, в частности эпителиального происхождения, из этих трех генов является ген *BRAF* [21]. Мутации в гене *BRAF* часто встречается в зубчатой аденоме, из которой в дальнейшем развивается КРР [22]. Чаще всего при раке толстой кишки в гене *BRAF* мутация обнаруживается в 600 кодоне [11, 45] (в 90-96% случаев p.V600E). При этом опухоли располагаются преимущественно в проксимальных отделах толстой кишки [11]. Интересно, что опухоли с мутациями в гене семейства RAS или RAF, входящих в состав одного MAPK пути, имеют разное прогностическое значение. Так опухоли с мутацией в гене *BRAF* имеют худший прогноз в сравнении с мутантной опухолью по гену семейства RAS [11]. Более того, в исследовании Shelygin Y.A. и соавт. мутации в гене *BRAF* имели высокую ассоциацию с опухолями, имеющими мезенхимальный фенотип и осложненными перитонеальным карциноматозом брюшины [48]. На клеточных линиях КРР, с мутацией p.V600E (ген *BRAF*), продемонстрирована высокая инвазивная и миграционная активность клеток [40]. Важно отметить, что опухоли толстой кишки с мутацией в гене *BRAF* можно разделить на две группы по статусу микросателлитной нестабильности: микросателлитностабильные (MCC, MSS) и микросателлитнонестабильные (MCH, MSI-H). Микросателлитнонестабильные опухоли имеют более благоприятный прогноз, низкую частоту рецидивов и метастазов [36]. В то время как *BRAF*-мутированные опухоли с MCC статусом являются наиболее агрессивными [44] и чаще ассоциированы с эпителиально-мезенхимальным переходом [48].

#### **ЭМП И МИКРОРНК**

С момента открытия микроРНК в клетках млекопитающих [15], они стали изучаться не только в качестве регуляторов экспрессии белков, но и

как перспективные ранние биомаркеры заболеваний и потенциальные мишени для разработки лекарственных средств. МикроРНК – это короткие (18-22 нуклеотидов) некодирующие РНК, которые транскрибируются из собственных генов, либо из кодирующих генов или интронов [13]. По разным оценкам, мишенями микроРНК являются от 30 до 60% генов человека, кодирующих белок [43]. МикроРНК участвуют в подавлении активности генов: комплементарно спариваются с участками мРНК и ингибируют их трансляцию [13,53] (Рис. 2). В настоящее время известно 1881 микроРНК, с расшифрованной последовательностью нуклеотидов, которые участвуют в регуляции генов различных биологических процессов человека. При КРР микроРНК регулируют активность генов основных сигнальных путей – Wnt [19], MAPK [41], TGF- $\beta$  [57], а также канцерогенез метастазов и эпителиально-мезенхимальный переход [27].

Как упоминалось ранее, ЭМП сложный процесс, связанный с изменением функционирования генов и их регуляцией. Одним из регуляторов генов выступает микроРНК. Дисбаланс между микроРНК и её геном-мишенью имеет двусмысленность. В одних случаях низкая экспрессия микроРНК приводит к активации ЭМП, в других высокая. Например, низкая экспрессия микроРНК семейства 200, включающее микроРНК 200а, микроРНК 200б, микроРНК 200с, микроРНК 141 и микроРНК 429, приводит к высокой экспрессии генов *ZEB1/ZEB2*, что косвенно снижает экспрессию гена *CDH1* [17,49] и, тем самым, активируется процесс ЭМП. Другой случай, высокая экспрессия микроРНК 23а снижает экспрессию гена-супрессора опухоли – *CDH1* и активирует Wnt/ $\beta$ -catenin сигнальный путь [39].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эпителиально-мезенхимальный переход является сложным мультифакториальным процессом, несомненно, играющим важную роль для канцерогенеза колоректального рака. Несмотря на достаточно большое число работ, остается много открытых вопросов в понимании регуляции процесса эпителиально-мезенхимального перехода. Более углубленное молекулярно-генетическое изучение отдельных клеток либеркуновой крипты, сигнальных путей, межклеточных взаимодействий, а также регуляции экспрессии генов и их продуктов может пролить свет на понимание метастазирования опухоли эпителиального происхождения и улучшить результаты лечения пациентов с КРР.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зубцов, Д.А. Циркулирующие опухолевые клетки (цок) при раке молочной железы: прогностическая значимость и методы выделения / Д.А.Зубцов, Ж.И.Зубцова, А.В.Лавров, и соавт. // Труды Московского физико-технического института. – 2012. – № 3 (4). – с. 18-26.
2. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (Заболеваемость и смертность) / А.Д.Каприн, В.В.Старинский, Г.В.Петрова // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – 250 с.
3. Крахмаль, Н.В. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления / Н.В.Крахмаль, М.В.Завьялова, Е.В.Денисов и

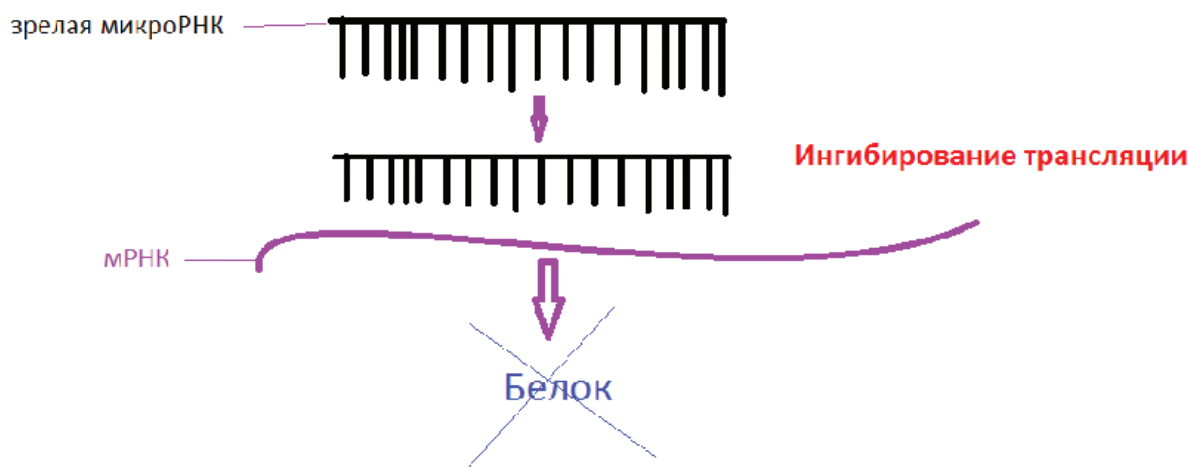


Рисунок 2. Схематическое изображение ингибирования процесса трансляции микроРНК

- соавт. // *Acta Naturae*. – 2015. – т. 7. – № 2 (25). – с. 18-31.
4. Логинов, В.И. Метилирование генов микроРНК и онкогенез (обзор) / В.И.Логинов, С.В.Рыков, М.В.Фридман и соавт. // *Биохимия*. – 2015. – т. 80. – № 2. – с. 184-203.
  5. Макарова, Ю.А. Некодирующие РНК (обзор) / Ю.А.Макарова, Д.А.Крамеров // *Биохимия*. – 2007. – т. 72. – № 11. – с. 1427-1448.
  6. Непомнящая, Е.М. Циркулирующие опухолевые клетки и некоторые морфо-иммуногистохимические показатели при колоректальном раке / Е.М.Непомнящая, О.И.Кит, О.В.Нистратова и соавт. // *Современные проблемы науки и образования*. – 2016. – № 2. – с. 140.
  7. Патютко, Ю.И. Непосредственные результаты резекций печени по поводу метастазов колоректального рака / Ю.И.Патютко, А.Г.Котельников, К.Г.Мамонтов и соавт. // *Онкологическая колопроктология*. – 2014. – № 1. – с. 14-20.
  8. Писарева, Е.Е. Анализ мутаций в генах *Kras* и *Braf* при раке толстой и прямой кишки в российской популяции / Е.Е.Писарева, Л.Н.Любченко, С.П.Коваленко и соавт. // *Сибирский онкологический журнал*. – 2016. – № 2 (15). – с. 36-41.
  9. Сушков, О.И. Перитонеальный карциноматоз при раке толстой кишки. Подходы к лечению. (Обзор литературы) / О.И.Сушков, С.И.Ачкасов // *Колопроктология*. – 2016. – № 4 (58). – с. 69-79.
  10. Тюлюсов, А.М. Результаты лечения больных с метастазами колоректального рака в легкие / А.М.Тюлюсов // *Аспирантский вестник Поволжья*. – 2014. – № 5-6. – с. 116-118.
  11. Федянин, М.Ю. Перспективы лечения больных раком толстой кишки с мутацией в гене *BRAF* / М.Ю.Федянин, А.А.Трякин, С.А.Тюляндин // *Онкологическая Колопроктология*. – 2014. – № 3. – с. 9-16.
  12. Шубин, В.П. Частота и спектр мутаций в гене *KRAS* при раке толстой кишки разной локализации и раке анального канала / В.П.Шубин, Н.И.Поспехова, А.С.Цуканов и соавт. // *Медицинская генетика*. – 2014. – № 5 (13). – с. 31-35.
  13. Щербо, С.Н. Биомаркеры персонализированной медицины часть 5. Некодирующие РНК и микроРНК/ С.Н.Щербо, Д.С.Щербо, М.Ю.Кралин // *Медицинский алфавит*. – 2015. – № 11 (3). – с. 5-11.
  14. Amado, R.G. Wild-type *KRAS* is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer / R.G.Amado, M.Wolf, M.Peeters et al. // *J.Clin. Oncol*. – 2008. – № 26. – p. 1626-1634.
  15. Ambros, V. The functions of animal microRNAs / V.Ambros // *Nature*. – 2004. – № 7006 (431) – p. 350-5.
  16. Blaj, C. Oncogenic Effects of High MAPK Activity in Colorectal Cancer Mark Progenitor Cells and Persist Irrespective of RAS Mutations. / C.Blaj, E.M.Schmidt, S.Lamprecht et al. // *Cancer Res*. – 2017. – № 7 (77). – p. 1763-1774.
  17. Burk, U. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells / U.Burk, J. Schubert, U. Wellner et al. // *EMBO Rep*. – 2008. – № 6 (9). – p. 582-589.
  18. Busch, E.L. Somatic mutations in *CDH1* and *CTNNB1* in primary carcinomas at 13 anatomic sites / E.L.Busch, J.L.Hornick, R.Umeton et al. // *Oncotarget*. – 2017. – 8 (49). – p. 85680-85691.
  19. Cao, J. MicroRNA-552 promotes tumor cell proliferation and migration by directly targeting *DACH1* via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in colorectal cancer/ J.Cao, X.R.Yan, T.Liu et al. // *Oncol. Lett*. – 2017. – № 3 (14). – p. 3795-3802.
  20. Chang, Y.Y. Mutation spectra of RAS gene family in colorectal cancer / Y.Y.Chang, P.C.Lin, H.H.Lin et al. // *Am. J. Surg*. – 2016. – № 3 (212). – p. 537-544.
  21. Davies, H. Mutations of the *BRAF* gene in human cancer / H.Davies, G.R.Bignell, C.Cox et al. // *Nature*. – 2002. – № 417. – p. 949-54.
  22. De Sousa, E.M.F. Poor prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions/ E.M.F.De Sousa, X.Wang, M.Jansen et al. // *Nat.Med*. – 2013. – № 19. – p. 614-8.
  23. Engell, H.C. Cancer cells in the circulating blood: A clinical study on the occurrence of cancer cells in the peripheral blood and in venous blood draining the tumour area at operation/ H.C.Engell// *Acta Chir. Scand*. – 1955. – № 201. – p. 1-70.
  24. Fensterer, H. Expression profiling of the influence of RAS mutants on the TGFB1-induced phenotype of the pancreatic cancer cell line PANC-1. / H.Fensterer, K.Giehl, M.Buchholz et al. // *Genes Chromosomes Cancer*. – 2004. – № 3 (39). – p. 224-35.
  25. Frixen, U.H. E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells/ U.H.Frixen, J.Behrens, M.Sachs et al. // *J. Cell Biol*. – 1991. – № 1 (113). – p. 173-85.
  26. Grasselli, J. Concordance of blood- and tumor-based detection of RAS mutations to guide anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer / J.Grasselli, E.Elez, G. Caratù et al. // *Ann. Oncol*. – 2017. – № 6 (28). – p. 1294-1301.
  27. Guo, Y. Regulatory miRNAs in Colorectal Carcinogenesis and Metastasis / Y.Guo, Y.Bao, W.Yang // *Int. J. Mol. Sci*. – 2017. – № 4 (18). – pii: E890.
  28. Hay, A.D. An overview of epithelio-mesenchymal transformation / A.D.Hay // *Acta Anat (Basel)*. –

1995. – № 1 (154). – p. 8-20.
29. Janakiraman, M. Genomic and biological characterization of exon 4 KRAS mutations in human cancer / M.Janakiraman, E.Vakiani, Z.Zeng et al. // *Cancer Res.* – 2010. – № 70. – p. 5901-5911.
30. Jones, R.P. Specific mutations in KRAS codon 12 are associated with worse overall survival in patients with advanced and recurrent colorectal cancer / R.P.Jones, P.A.Sutton, J.P.Evans et al. // *Br. J. Cancer.* – 2017. – № 7 (116). – p. 923-929.
31. Kalluri, R. The basics of epithelial-mesenchymal transition / R.Kalluri, R.A.Weinberg // *J. Clin. Invest.* – 2009. – № 6 (119). – p. 1420-8.
32. Kit, O.I. KRAS gene mutations and gender differences in colorectal cancer / O.I.Kit, D.I.Vodolazhskiy, Yu.A.Gevorkyan, et al. // *International Journal of Biomedicine.* – 2015. – № 1 (5). – p. 11-15.
33. Knijn, N. KRAS mutation analysis: a comparison between primary tumours and matched liver metastases in 305 colorectal cancer patients / N.Knijn, L.J.M.Mekenkamp, M.Klomp et al. // *Br. J. Cancer.* – 2011. – № 6 (104). – p. 1020-1026.
34. Kozomara, A. Mirbase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. / A.Kozomara, S.Griffiths-Jones // *Nucleic Acids Research.* – 2011. – № 39. – p. 152-7.
35. Lamouille, S. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition/ S.Lamouille, J.Xu, R.Derynck. // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* – 2014. – № 15. – p. 178-96.
36. Landau, M.S. BRAF-mutated microsatellite stable colorectal carcinoma: an aggressive adenocarcinoma with reduced CDX2 and increased cytokeratin 7 immunohistochemical expression / M.S.Landau, S.F.Kuan, S.Chiosea et al. // *Hum. Pathol.* – 2014. – № 45. – p. 1704-12.
37. Leiser, D. KRAS and HRAS mutations confer resistance to MET targeting in preclinical models of MET-expressing tumor cells / D.Leiser, M.Medová, K.Mikami et al. // *Mol. Oncol.* – 2015. – № 7 (9). – p. 1434-46.
38. Luzzi, K.J. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases / K.J.Luzzi, I.C.MacDonald, E.E.Schmidt et al. // *Am J Pathol.* – 1998. – № 3 (153). – p. 865-73.
39. Ma, F. MiR-23a promotes TGF- $\beta$ 1 induced EMT and tumor metastasis in breast cancer cells by directly targeting CDH1 and activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling / F.Ma, W.Li, W.Liu et al. // *Oncotarget.* – 2017. – № 4 (18). – p. 69538-69550.
40. Makrodouli, E. BRAF and RAS oncogenes regulate RhoGTPase pathways to mediate migration and invasion properties in human colon cancer cells: a comparative study / E.Makrodouli, E.Oikonomou, M.Koc et al. // *Mol. Cancer.* – 2011. – № 118 (10).
41. Nawshad, A. Transforming growth factor-beta signaling during epithelial-mesenchymal transformation: implications for embryogenesis and tumor metastasis / A.Nawshad, D.Lagamba, A.Polad et al. // *Cells Tissues Organs.* – 2005. – № 179. – p. 11-23.
42. Nowell, P.C. The clonal evolution of tumor cell populations / P.C. Nowell // *Science.* 1976. – V. 194. – p. 23-28.
43. Peterson, S.M. Common features of microRNA target prediction tools / P.C.Nowell, J.A.Thompson, M.L.Ufkin et al. // *Front Genet.* – 2014. – № 23 (5). – p. 1-10.
44. Popovici, V. Identification of a poor-prognosis BRAF-mutant-like population of patients with colon cancer / V.Popovici, E.Budinska, S.Tejpar et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2012 – № 30. – p. 1288-95.
45. Roskoski, R.Jr. RAF protein-serine/threonine kinases: structure and regulation / R.Jr.Roskoski // *Biochem. Biophys Res. Commun.* – 2010. – № 3 (399). – p. 313-7.
46. Sadanandam, A. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. / A.Sadanandam, C.A.Lyssiotis, K.Homicisko et al. // *Nat. Med.* – 2013. – № 5 (19) – p. 619-25.
47. Scheel, C. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links / C.Scheel, R.A.Weinberg // *Semin. Cancer Biol.* – 2012. – № 5-6 (22). – p. 396-403.
48. Shelygin, Y.A. Epithelial-mesenchymal transition and somatic alteration in colorectal cancer with and without peritoneal carcinomatosis / Y.A.Shelygin, N.I.Pospekhova, V.P.Shubin et al. // *Biomed. Res. Int.* – 2014. – v. 2014. – Article ID 629496.
49. Shelygin, Y.A. The analysis of micrornas mir-200c and mir-145 expression in colorectal cancer of different molecular subtypes / Y.A.Shelygin, V.P.Shubin, S.A.Frolov et al. // *Doklady Biochemistry and Biophysics.* – 2015. – № 1 (463). – p. 243-246.
50. Tan, C. KRAS mutation testing in metastatic colorectal cancer / C.Tan, X.Du // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – № 37 (18). – p. 5171-80.
51. Tan, Y. The significant prognostic value of circulating tumor cells in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis / Y.Tan, H.Wu // *Curr. Probl. Cancer.* – 2017. – S0147-0272 (17). – p. 30129-0.
52. Thiery, J.P. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression / J.P.Thiery // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002. – № 6 (2). – p. 442-54.
53. Valencia-Sanchez, M.A. Control of translation

- and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. / M.A.Valencia-Sanchez, J.Liu, G.J.Hannon et al. // Genes and Development. – 2006. – № 20. – p. 515-24.
54. Van Eenennaam, H. Architecture and function of the human endonucleases RNase P and RNase MRP. / H.Van Eenennaam, N.Jarrous, W.J.Van Venrooij et al. // IUBMB Life. – 2000. – № 49. – p. 265-272.
55. Vasudevan, S. Switching from Repression to Activation: MicroRNAs Can Up-Regulate Translation / S.Vasudevan, Y.Tong, J.A.Steitz // Science. – 2007. – № 5858 (318). – p. 1931-4.
56. Vaughn, C.P. Frequency of KRAS, BRAF, and NRAS mutations in colorectal cancer / C.P.Vaughn, S.D.Zobell, L.V.Furtado et al. // Genes Chromosomes Cancer. – 2011. – № 50. – p. 307-12.
57. Wei, Z.J. Up-regulation of microRNA-302a inhibited the proliferation and invasion of colorectal cancer cells by regulation of the MAPK and PI3K/Akt signaling pathways / Z.J.Wei, M.L.Tao, W.Zhang et al. // Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2015. – № 5 (8). – p. 4481-91.
58. Wood, L.D. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers / L.D.Wood, D.W.Parsons, S.Jones et al. // Science. – 2007. – № 318. – p. 1108-1113.