

# Маркеры опухолевого роста в диагностике рака почки

## Tumor markers in kidney cancer diagnosing

O.B. Banyra, A.A. Stroy, A.V. Shulyak

In this review article we have analyzed the results of major contemporary investigations that concern kidney cancer biomarkers searching. Thanks to the new scientific achievements in fields of genetics, molecular biology, biochemistry and by using of novel diagnostic technologies it became possible to determine cancer-specific components concentrations in tissues and biological fluids.

Depending on the analyzing sample nature, may differentiate three groups of potential tumor markers in kidney cancer detecting and diagnosing: 1) tissue-based markers; 2) blood-based markers; 3) urine markers. Based on the utility of markers, it may be easiest to divide them on the following categories: 1) early detection markers; 2) diagnostic markers; 3) prognostic markers; 4) predictive markers. The proved value in kidney cancer diagnosing belongs to tissue-based markers (VEGF, HIF-1 alpha, miR, Survivin, mTOR, CAIX, PTEN, caveolin-1) and to blood-based markers (VEGF, CAIX, miR). MiR profiling demonstrates high specificity and makes enable to diagnose primary tumor, presence of metastatic lesions, to determine histologic type of kidney cancer as before surgery or in postoperative period.

Blood-based markers appear to be the most useful among the all due to simplicity of analyzing process. Most presented clinical markers need further clinical validation, especially in prospective studies. The search of universal early detection kidney cancer biomarker continues.

О.Б. Баньра, А.А. Строй, А.В. Шуляк

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого

**П**осле выяснения составляющих канцерогенеза рака почки (renal cell carcinoma, RCC) [1], систематизации его механизмов и путей медикаментозного воздействия [2], естественным является ожидание изменений концентраций компонентов, ответственных за процессы опухолевого роста в тканях опухоли и биологических средах организма. Благодаря последним достижениям в областях генетики, молекулярной биологии, биохимии, а также появлению новейших диагностических методик, стало возможным определять содержание канцер-специфических субстратов в исследуемых образцах, полученных у пациента. Поэтому, в настоящее время в мире широко проводятся исследования, целью которых является определение диагностической ценности определенных маркеров канцерогенеза. Принципиален характер необходимого материала, в котором определяется наличие каждого субстрата (маркера). В зависимости от анализируемого материала, различают следующие группы потенциальных диагностических маркеров RCC:

а) **тканевые маркеры** (ген VHL, VEGF, HIF-1-alpha, miR, Survivin, mTOR, CAIX, PTEN, тирозинкиназы Akt и S6, гены EMCN, NOS3, CCL5 и CXCL9, caveolin-1 и др.);

б) **маркеры крови** (VEGF, CAIX, miR);

в) **маркеры мочи** (NMP-22).

Концентрации VEGF, miR и CAIX возможно определять как в образцах исследуемых тканей, так и в крови пациентов.

Недавно опубликованы научные работы, в которых демонстрируется прогностическая ценность отдельной группы маркеров RCC, не требующих забора диагностического материала у пациента – так называемых функциональных физиологических биомаркеров. К ним относятся ассоциированная с терапией гипертензия (*treatment-associated hypertension, HTN*) и индекс массы тела (*body-mass index, BMI*). Ассоциированная с терапией гипертензия на фоне лечения сунитинибом или комбинацией бевацизумаб + интерферон коррелирует с медианами выживаемости без прогрессии и общей выживаемости, а наличие HTN считается благоприятным прогностическим признаком [3, 4]. У пациентов с избыточным весом и индексом массы тела большим, чем 30 кг/м<sup>2</sup>, на фоне VEGF-нацеленной таргетной терапии медиана общей выживаемости значительно выше, чем у пациентов без лишнего веса на фоне той же терапии: 32,5 мес. и 20,6 мес. соответственно [5].

Наибольшая доказанная ценность в диагностике присущих для RCC изменений принадлежит тканевым маркерам и маркерам крови.

Li M. и Rathmell W.K. в 2011 г. предложили следующую классификацию биомаркеров RCC, в зависи-

мости от цели их применения [6]:

а) **биомаркеры раннего выявления** – позволяют осуществлять скрининг пациентов на наличие у них RCC;

б) **диагностические биомаркеры** – позволяют подтвердить либо исключить диагноз RCC, а также определить его гистологический тип;

в) **прогностические биомаркеры** – позволяют выявить определенные признаки, которые коррелируют с особенностями клинического течения RCC и/или клиническим прогнозом;

г) **биомаркеры предсказания** – позволяют предсказать уровень терапевтического ответа на лечение и осуществлять мониторинг эффективности медикаментозной терапии RCC.

В нашей статье рассмотрены основные возможные маркеры рака почки, особое внимание уделено маркерам крови, учитывая относительную простоту технологий их определения и потенциальную возможность использования представителей этой группы для скрининга RCC.

## ТКАНЕВЫЕ МАРКЕРЫ

Исследования демонстрируют, что врожденные либо приобретенные мутации гена Вилльямс-Линдау (VHL) присутствуют примерно у 90% пациентов со спорадическим светлоклеточным раком почки (ccRCC) [7]. Однако, аберрации VHL свидетельствуют исключительно о высокой вероятности возникновения ccRCC и не могут считаться биомаркерами раннего выявления либо предсказания эффективности таргетной терапии. Так, Gad S. и соавт. в 2007 г., анализируя течение метастатического ccRCC у 13 пациентов на фоне приема акситиниба не выявили корреляцию между степенью мутаций гена VHL и уровнем терапевтического ответа на лечение препаратом [8]. Похожее по дизайну исследование было про-

ведено Hutson T.E. и соавт. В 2008 г. у 78 пациентов не была установлена корреляция между степенью мутаций гена VHL и успешностью терапии пазопанибом [9].

## Хемокиновый рецептор CXCR4

Мутации гена VHL значительно повышают транскрипцию генов и рецепторов, синтез которых зависит от экспрессии гипоксия-индуцибельного фактора-1- $\alpha$  (HIF-1- $\alpha$ ). Среди множества адгезивных клеточных рецепторов, которые принимают участие в канцерогенезе ccRCC, хемокиновому рецептору CXCR4 принадлежит ключевая роль в процессах проникновения клеток опухоли сквозь межтканевые барьеры. Этот рецептор обеспечивает способность раковых клеток к миграции в другие органы, а также дальнейшее развитие метастазов. Уровень экспрессии CXCR4 коррелирует с распространенностью опухолевого процесса при ccRCC [10].

Аберрации гена VHL всегда сопровождаются повышением экспрессии CXCR4, а стойкое повышение уровня экспрессии этого рецептора считается признаком неблагоприятного течения ccRCC [11].

## Сурвивин (Survivin)

*Дерегуляция апоптоза является отличительной особенностью канцерогенеза. Survivin (baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5 or BIRC5) – представитель семейства протеинов-ингибиторов апоптоза обладает способностью контролировать митотическую прогрессию и индуцировать изменения в экспрессии генов, ответственных за инвазивную способность клеток опухоли. Survivin селективно экспрессируется во время эмбриогенеза и дальнейшего развития новорожденного. По прекращению нормального, генетически запрограммированного развития организма он практически не определяется в норме, либо экспрессирован*

в крайне низких концентрациях в нормальных тканях здорового человека. В то же время гиперэкспрессия сурвивина отмечается при карциноме уротелия [12], раке предстательной железы [13], всех стадиях рака почки [14]. Более высокие уровни экспрессии сурвивина ассоциируются с низшей дифференциацией раковых клеток, агрессивным течением заболевания и меньшей выживаемостью при ccRCC. В случаях гиперэкспрессии сурвивина при локализованных формах ccRCC прогноз неблагоприятный [15]. Таким образом, экспрессия сурвивина может рассматриваться, как прогностический маркер развития ccRCC.

## PTEN

PTEN (*phosphatase and tensin homolog*) – белок-супрессор опухолевого роста, кодируемый геном-супрессором канцерогенеза 10q233/PTEN. В отличие от мишени для рапамицина у млекопитающих (mTOR), фосфатаза PTEN регулирует mTOR-путь благодаря ингибции фосфорилирования тирозинкиназы Akt в PI3K (останавливает процесс трансформации Akt  $\rightarrow$  PI3K) [16]. Снижение уровней PTEN наблюдается при процессах канцерогенеза и ассоциируется с неблагоприятным прогнозом при RCC. Более высокая экспрессия PTEN наблюдается в начальных стадиях рака почки, при его локализованных формах. Поначалу высокие уровни PTEN считались признаком благоприятного прогноза заболевания [17], однако недавние масштабные исследования Figlin R.A. и Yousiff T.A. не обнаружили корреляцию между экспрессией PTEN в ткани опухоли и уровнем терапевтического ответа на медикаментозное лечение, а также показателями выживаемости [18, 19].

## Тирозинкиназы Akt и S6K

Тирозинкиназа Akt – составляющая mTOR-пути, которая регулирует клеточный рост и выживаемость

мость благодаря своей способности к фосфорилированию ряда внутриклеточных молекул, среди которых и непосредственно mTOR. Более высокая экспрессия фосфорилированной Akt (pAkt) в клеточных ядрах первичной опухоли считается показателем благоприятного прогноза, а высокая экспрессия этой тирозинкиназы в цитоплазме клеток опухоли – наоборот, неблагоприятный прогностический признак [17]. Следует отметить, что недавняя работа Youssif T.A. и соавт. (2010 г.) демонстрирует отсутствие прогностической ценности определения экспрессии pAkt в случаях метастатических форм RCC, в отличие от доказанной информативности использования этого тканевого маркера при локализованных формах рака почки [19].

Другая составляющая mTOR-пути – тирозинкиназа S6K. Активированный mTOR фосфорилирует S6K, превращая ее в фосфорилированную форму pS6K, которая обеспечивает инициацию трансляции протеинов внутри клетки. Экспрессия pS6K коррелирует со степенью ядерной атипии в клетках опухоли, стадией заболевания, наличием метастазов и канцер-специфической выживаемостью. Исследуя уровни pAkt и pS6K в образцах опухоли у 20 пациентов, которым проводилась терапия темсиrolimusом, Cho D. и соавт. в 2007 г. подытожили, что обе эти фосфорилированные тирозинкиназы можно считать биомаркерами предсказания эффективности mTOR-направленной терапии [20].

### Кавеолин-1 (Caveolin-1)

Caveolin-1, кавеолин-1 – составляющая кавеол – структурных компонентов клеточных мембран, ответственных за процессы клеточной адгезии, роста и выживаемости. Экспрессия кавеолина-1 ассоциирована с неблагоприятным прогнозом при раке предстательной железы, пищевода, легких, молочной железы [21]. В 86,4% случаев ссRCC уровни

кавеолина в тканях опухоли повышены, в то время, как его гиперэкспрессия наблюдается только в 5% папиллярного и хромофобного рака почки. Одновременное повышение уровней кавеолина и составляющих Akt/mTOR-пути свидетельствует о неблагоприятном прогнозе ссRCC (HR: 2,13;  $p < 0,001$ ) [22].

### Экспрессия генов в ткани опухоли

Изучение профиля экспрессии генов при опухолях различной локализации демонстрирует взаимосвязь между экспрессией определенных генов и показателями выживаемости. Уже известно о корреляции экспрессии генов ER, PR и HER2, которая определяется с помощью иммуногистохимических методов с прогнозом течения рака молочной железы. С учетом показателей экспрессии указанных генов разработаны прогностические модели для этой формы рака [23].

Масштабное исследование по профилированию экспрессии генов при локализованном ссRCC проведено Rini B.I. и соавт. в 2010 г. Исследователи сравнивали экспрессию 732 генов в каждом из 931 образцов опухолей и промежуток без рецидивов заболевания (*recurrence-free interval, RFI*) – промежуток времени между нефректомией по поводу ссRCC до первого рецидива заболевания, либо до *exitus lethalis*, обусловленного ссRCC. Медиана продолжительности наблюдения составляла 5,6 лет. Исследованию присуща 80% достоверность со статистической ошибкой (*hazard ratio, HR*)  $\geq 1,3$ . С использованием мультивариантного анализа авторами установлено, что уровни экспрессии 16 генов коррелируют с RFI (HR = 0,68-0,80). Характерно, что повышение экспрессии генов, задействованных в процессах ангиогенеза (EMCN та NOS3) и генов, ответственных за иммунный статус (CCL5 та CXCL9), ассоциируется с низким риском рецидива заболева-

ния. Уровень статистической ошибки в представленном исследовании не отличался от уровней ошибок в исследованиях с определением других диагностических маркеров, например ER и HER2 при раке молочной железы. Авторами сделан вывод о том, что полученные результаты позволяют надеяться на успешное создание мультигенного алгоритма для прогнозирования вероятности рецидивирования ссRCC [24].

### МАРКЕРЫ КРОВИ

#### VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста)

Уровни VEGF в плазме крови напрямую коррелируют с уровнями экспрессии VEGF в тканях ( $p = 0,01$ ). Важным является также тот факт, что уровни VEGF сыворотки крови коррелируют с клинической стадией ссRCC, и степенью ядерной атипии по шкале Fuhrman, сосудистой инвазией ( $p = 0,03$ ), размерами опухоли ( $p = 0,01$ ) и выживаемостью [25]. Так, в исследовании, проведенном Negrier S. в 2004 г. изучалась взаимосвязь между выживаемостью 302 пациентов с метастатическим RCC после хирургического лечения и уровнями VEGF в сыворотке крови. Доказано, что исходные уровни VEGF определяют выживаемость без прогрессии (HR: 1,19;  $p < 0,01$ ) и общую выживаемость (HR: 1,39;  $p < 0,01$ ) у пациентов после хирургического лечения метастатического RCC [26]. Однако, по мнению предыдущих исследователей, а также Schips L. (2007 г.), уровни VEGF не могут считаться независимыми прогностическими показателями прогрессии RCC [27]. Вероятнее всего, этот вывод обусловлен техническими особенностями определения уровней VEGF и их калькуляции. Известно, что уровни VEGF в плазме и сыворотке крови отли-

чаются: они выше при определении в сыворотке крови [28]. Также известно, что VEGF в норме в высоких концентрациях присутствует в тромбоцитах, поэтому во время лизиса тромбоцитов возрастает концентрация VEGF сыворотки за счет тромбоцитарного компонента. Ввиду этого скрупулезное определение нетромбоцитарного VEGF, специфического для процессов ангиогенеза опухолей, осложнено.

В настоящее время продолжают исследования NCT00930345 и NCT00538772, целью которых является определение диагностической ценности измерения концентраций VEGF в крови, как прогностического маркера в таргетной терапии различными препаратами.

Уже известны результаты некоторых исследований со сходной конечной целью. Так, результаты II фазы клинических исследований по определению уровней VEGF и его растворимых форм (sVEGF-2, sVEGF-3) в плазме крови пациентов с метастатическим RCC на фоне терапии сунитинибом демонстрируют, что у пациентов с положительным терапевтическим ответом на проводимое лечение существенно понижаются уровни указанных маркеров в крови по сравнению с теми пациентами, у которых наблюдается лишь стабилизация течения заболевания или вообще отсутствие терапевтического эффекта ( $p < 0,05$  для каждой из групп) [29].

В похожем по дизайну исследовании отмечено: если на фоне лечения пазопанибом пациентов с метастатическим RCC на 14-й день понижается уровень sVEGF-2 плазмы крови, это является признаком более благоприятного прогноза и тенденции к возрастанию медианы выживаемости без прогрессии заболевания [30]. В то же время, изменение концентраций VEGF и sVEGF-2 в плазме крови не может считаться биомаркером предсказания эффективности лечения RCC сорафенибом [31].

### Углеродная ангидраза IX (Carbonic anhydrase IX gene, CAIX)

Углеродная ангидраза IX (CAIX) – локализованный на поверхности клетки рецептор-регулятор внутриклеточного pH. Также CAIX принимает участие в процессах клеточной пролиферации, канцерогенеза и опухолевой прогрессии. Высокие концентрации CAIX в крови свидетельствуют о наличии светлоклеточного RCC с достоверностью 86% ( $p = 0,001$ ) [32]. Присутствует корреляция экспрессии CAIX со стадией опухоли и степенью клеточной атипии [33], с вероятностью рецидивирования опухоли [34] и летальностью [35]. Результаты исследований Atkins M. (2005 г.) демонстрируют, что уровень экспрессии CAIX может считаться биомаркером предсказания эффективности лечения интерлейкином-2 [36].

Дальнейшие исследования Genega E.M. и соавт. (2010 г.) показали, что CAIX может считаться независимым прогностическим биомаркером RCC [37].

В настоящее время продолжается клиническое исследование SELECT, цель которого – на основании анализа статистически значимого количества случаев определить реальную ценность CAIX, как биомаркера предсказания успешности медикаментозной терапии у пациентов с метастатическим RCC.


### Микро-РНК (Micro RNA, miRNA, miR)

Micro RNA (micro ribonucleic acid, miRNA, miR) – микрорибонуклеиновая кислота – короткие молекулы рибонуклеиновой кислоты, присутствующие в клетках эукариотов и состоящие в среднем из 22 (18-25) нуклеотидов. Геном человека способен кодировать более 1000 miR, которые нацелены на около 60% генов, присутствующих в человеческом организме. Функцией

miR является посттрансляционная регуляция протеинов, осуществляемая путем угнетения их трансляции либо супрессией генов-мишеней. В последние годы появились публикации, которые подтверждают способность miR не только к угнетению, но и к стимулированию синтеза протеинов путем активирования процессов транскрипции и трансляции. В норме в различных тканях организма экспрессированы определенные miR, в зависимости от функции ткани и состояния ее клеток. При патологических изменениях структуры тканей, спектр экспрессии miR меняется. Определять концентрации miR можно как в образцах тканей, так и в биологических жидкостях организма (кровь, моча).

Аберрантная экспрессия miR возникает при патологических состояниях (заболевания сердечно-сосудистой системы, шизофрения, опухоли и др.). Считается, что определенные виды miR, являются составляющими системы самозащиты организма от возникновения опухолей. В то же время доказано, что существуют виды miR которым присуща проонкогенная активность и которые, наоборот, способствуют канцерогенезу в тканях, в том числе и в почечной паренхиме, благодаря своему участию в регулировании пролиферации раковых клеток, их апоптоза, инвазии, а также за счет участия в обеспечении процессов ангиогенеза [38].

Исследования Neal C.S. и соавт. (2010 г.) демонстрируют, что экспрессия тех miR, которые задействованы в процессах канцерогенеза рака почки, зависима от функции гена VHL [39]. Также доказано влияние тканевой гипоксии на экспрессию miR-210 [40], miR-199a-5p и miR-135a [41], miR-449a/b [42], miR-210, miR-155 и miR-21 [43].

Изучение уровней экспрессии определенных видов miR при различных формах рака и возможности создания препаратов, 



нацеленных на miR-звено канцерогенеза, интенсивно исследуется в настоящее время. Некоторые результаты уже обнародованы и активно используются в практической деятельности. Изучение профиля miR используется при определении склонности хронической лейкемии как к доброкачественному, так и к агрессивному злокачественному течению [44].

Продолжаются исследования по определению ценности miR в диагностике ранних форм колоректального рака. К преимуществам этого метода диагностики можно отнести неинвазивность, незначительное количество крови, необходимой для исследования (менее 1,0 мл), относительно низкую себестоимость, возможность формировать по результатам тестирования группы пациентов с высокой вероятностью наличия рака кишечника с последующей тщательной колоноскопией для определения локализации опухоли [45].

Учитывая тот факт, что диагностическая ценность определения экспрессии miR при указанных формах рака уже доказана, очевидно, что следует ожидать стойких изменений концентраций определенных miR и при раке почки. В 2008 г. Nakada S. и соавт. после изучения уровней экспрессии основных 470 miR констатировали, что при светлоклеточном раке почки экспрессия 43 miR у пациентов с ccRCC отличалась от таковой у здоровых исследуемых. Среди этих aberrантно экспрессированных 43 miR концентрации 37 были понижены, а концентрации 6 – наоборот, повышены по сравнению с нормой. Отмечено, что наибольшее изменение концентраций при ccRCC характерно для miR-141 и miR-200c [46].

Следует отметить, что уже доказано влияние miR-200c на экспрессию VEGF, которая определяет процессы ангиогенеза опухоли. При снижении экспрессии miR-200c, концентрации VEGF в ткани воз-

растают, что стимулирует развитие сосудистой сети опухоли. Похожая антикорреляция наблюдается между экспрессией miR-141 и концентрацией онкогена SEMA6A [43].

Fedra Gottardo и соавт. в 2007 г. исследовали экспрессию 245 miR у пациентов с опухолями почек. В общем исследовалась экспрессия miR в тканях почек у 27 пациентов, среди них у 20 пациентов уже был диагностирован RCC, у 4-х – присутствовали доброкачественные опухоли почек, у 3-х – патология со стороны почечной паренхимы отсутствовала. Для определения концентраций miR использовалась разработанная авторами методика гибридизации на олигонуклеотидном микрочипе с последующим miR-профилированием. Микрочипы содержали 368 проб в трех экземплярах, что позволяло определить экспрессию 245 miR. Результатом исследования считается факт установления существенных отличий в экспрессии miR-28, miR-185, miR-27 в образцах опухолей почки по сравнению с образцами здоровой паренхимы и доброкачественными опухолями ( $p < 0,05$ ) [47].

Onrei Slaby и соавт. в 2010 г. обнародовали результаты своих исследований, основным результатом которых является утверждение о диагностической ценности miR-106b, как потенциального маркера, позволяющего диагностировать появление ранних метастазов после нефрэктомии у пациентов с RCC. Были исследованы образцы опухолей у 38 пациентов и 10 образцов здоровых почек. Отмечено, что уровни miR-210 в тканях опухоли повышены в 60 раз по сравнению с здоровой тканью почечной паренхимы, а уровни miR-141 – наоборот, понижены в 15 раз. У пациентов, у которых после нефрэктомии развились метастазы, отмечено снижение экспрессии miR-155, miR-106a и miR-106b в образцах крови, однако только изменениям концентрации miR-106b присуща статистическая достоверность ( $p =$

0,03). С использованием методики Каплан-Мейера была установлена связь между концентрацией miR-106b в крови и наличием метастазов RCC ( $p = 0,032$ ). В то же время, связь между наличием метастазов и концентрациями miR-155, miR-106a, miR-200b и miR-200c по данным авторов отсутствует [48].

Youssef Y.M. и соавт. в 2011 г., основываясь на изучении miR-профиля у 94 пациентов, разработали оригинальную четырехэтапную методику диагностики RCC с последующим определением гистологического вида опухоли [49]. Указанная методика позволяет со специфичностью 97% дифференцировать рак почки от здоровой почечной ткани. При дальнейшем установлении гистологического вида RCC специфичность выявления светлоклеточного (ccRCC) составляет 100%, папиллярного RCC (pRCC) – 97%. С точностью до 100% удается дифференцировать наличие у пациента доброкачественной онкоцитомы почки от хромофобного RCC (chRCC).

Суть предложенной диагностической методики состоит в оценке соотношений концентраций определенных miR у каждого пациента. В зависимости от соотношений концентраций miR в нескольких парах (определяется, концентрация какой из двух miR в паре выше), и принимается диагностическое заключение о наличии либо отсутствии у пациента опухоли почки.

Схематически поэтапная диагностика RCC по методике Youssef Y.M. и соавт. изображена на рисунке 1.

**На первом этапе**, после анализа соотношений концентраций в каждой из шести пар miR происходит принципиальная дифференциация пациентов с опухолями почек (ccRCC, pRCC, chRCC, онкоцитомы) от пациентов, у которых новообразование в паренхиме почек отсутствуют. Проводится сравнительная характеристика стандартных шести пар miR. Опытным путем предвари-

тельно было установлено, что в образцах нормальной почечной ткани преобладают следующие соотношения концентраций miR:

- miR 200c > miR 222;
- miR 194 > miR 15b;
- miR 324-5p > miR 34a;
- miR 500 > miR 425;
- miR 10b > miR 28-3p;
- miR 532-5p > miR 93.

Поэтому, для достоверного анализа состояния почечной паренхимы определяются соотношения miR во всех шести парах, и, если большинство указанных соотношений сохранено, констатируется отсутствие опухолевых изменений в паренхиме почек. И наоборот, если в большинстве из этих шести пар miR указанные соотношения нарушены, диагностируется наличие опухоли.

**Второй этап** диагностики позволяет со специфичностью 100% отдифференцировать светлоклеточный рак почки от группы опухолей, в которую включены папиллярный рак, хромофобный рак и онкоцитомы. Для сравнительной оценки на этом и каждом последующем этапе используются уже другие, стандартные для каждого этапа, пары miR.

**На третьем этапе** происходит разделение испытуемых образцов на те, которые по данным miR-профилирования соответствуют папиллярному RCC и на группу образцов с молекулярными характеристиками, присущими хромофобному RCC и онкоцитоме.

И, наконец, если на втором и третьем этапах не был установлен гистологический вид RCC, происходит последний, **четвертый этап** диагностики, во время которого хромофобный RCC дифференцируется от онкоцитомы.

Анализируя молекулярные составляющие различных гистологических видов RCC и онкоцитомы, авторы пришли к выводу, что развитие светлоклеточного рака почки

по своим механизмам и задействованным компонентам сходно с папиллярным раком, а особенности развития и молекулярные характеристики хромофобного RCC близки к онкоцитоме.

Диагностическая ценность маркера, безусловно, зависит от его специфичности. Также важным в выборе маркера является вид биологической среды, в которой он экспрессирован, и которую удобно забирать у пациента во время диагностических манипуляций. Очевидно, что маркеры крови обладают преимуществом по сравнению с тканевыми маркерами, поскольку технически намного проще произвести у пациента забор крови, нежели осуществлять прицельную биопсию опухоли, необходимую для получения образца исследуемой ткани, с задействованием специально обученного персонала и обязательной анестезией пациента. Недостатками тканевых маркеров также можно считать невозможность широкого их использования для скрининга RCC и относительно невысокую вероятность получения биоптата именно с участка опухоли при исследовании новообразований почек размерами до 4 см в диаметре, не превышающую 80% [50], что отрицательно влияет на достоверность диагностического поиска.

## Выводы

1. Учитывая результаты представленных исследований, представляется возможным и необходимым использование биомаркеров в ранней диагностике рака почки, а также его метастазов.
2. Ввиду неинвазивности и объективности, маркерам крови присуща наибольшая практическая ценность.
3. Уровни VEGF сыворотки крови коррелируют с клинической ста-

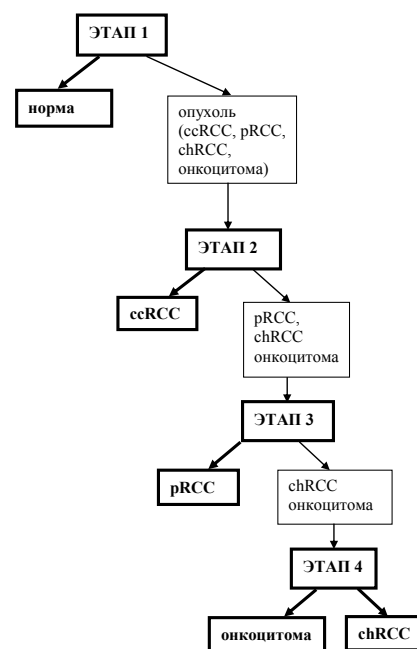


Рисунок 1. Схема поэтапной диагностики и определения гистологического вида RCC по методике Youssef Y.M. и соавт. (2011 г.)

дией ccRCC, степени ядерной атипичности по шкале Fuhrman, сосудистой инвазией, размерами опухоли и выживаемостью.

4. Присутствует корреляция экспрессии CAIX со стадией рака почки и степенью клеточной атипичности, с вероятностью рецидивирования опухоли и летальностью. CAIX может рассматриваться, как вероятный независимый прогностический биомаркер RCC.

5. MiR-профилированию присущи высокая специфичность в диагностике RCC, в определении его гистологического вида и детекции ранних метастазов после нефрэктомии.

Итак, поиск универсального диагностического маркера RCC продолжается. Для определения истинной ценности каждого из экспериментальных маркеров необходимо проведение дополнительных исследований с вовлечением большего количества пациентов. ■

**Ключевые слова:** рак почки, маркеры опухолевого роста, тканевые биомаркеры, маркеры крови, маркеры мочи, биомаркеры раннего выявления, диагностические биомаркеры, биомаркеры предсказания.

**Keywords:** kidney cancer, tumor markers, tissue-based biomarkers, blood-based markers, urine markers, early detection biomarkers, diagnostic biomarkers, prognostic biomarkers, predictive markers.

## ЛИТЕРАТУРА

- Rini B., Small E. Biology and Clinical Development of Vascular Endothelial Growth Factor-Targeted Therapy in Renal Cell Carcinoma // *Journal of Clinical Oncology*, 2005; Vol. 23 (5): P. 1028-1043.
- Баныра О.Б., Шуляк А.В., Ингибиция ангиогенеза в лечении рака почки: механизмы, особенности и перспективы // *Экспериментальная и клиническая урология*, 2011; Т.1: С. 59-68.
- Rini B.I., Cohen D.P., Lu D., et al. Hypertension (HTN) as a biomarker of efficacy in patients (pts) with metastatic renal cell carcinoma (mRCC) treated with sunitinib 2010 Genitourinary Cancers Symposium // 2010, abstr 312.
- Harzstark A.L., Halabi S., Stadler W.M., et al. Hypertension is associated with clinical outcome for patients(pts) with metastatic renal cell carcinoma (RCC) treated with interferon and bevacizumab on CALGB 90206. 2010 Genitourinary Cancer Symposium // 2010, abstr. 351.
- Choueiri T.K., Xie W., Kollmannsberger C.K., et al. The impact of body mass index (BMI) and body surface area (BSA) on treatment outcome to vascular endothelial growth factor (VEGF)-targeted therapy in metastatic renal cell carcinoma: Results from a large international collaboration // *J Clin Oncol*. 2010; 28:15s (suppl; abstr. 4524).
- Li M. and Rathmell W.K. The Current Status of Biomarkers for Renal Cell Carcinoma // 2011, P. 153-157 available at: <http://www.asco.org/ASCOv2/Home/Education>.
- Brauch H., Weirich G., Brieger J., Glavac D., Rödl H., Eichinger M., Feurer M., Weidt E., Puranakanittha C., Neuhaus C., Pomer S., Brenner W., Schirmacher P., Störkel S., Rotter M., Masera A., Gugeler N., Decker H.J. VHL alterations in human clear cell renal cell carcinoma: association with advanced tumor stage and a novel hot spot mutation // *Cancer Res*. 2000 Apr 1;60(7):1942-8.
- Gad S., Sultan-Amar V., Meric J., et al. Somatic von Hippel-Lindau (VHL) gene analysis and clinical outcome under antiangiogenic treatment in metastatic renal cell carcinoma: Preliminary results // *Targeted Oncol*. 2007; 2:3-6.
- Hutson T.E., Davis I.D., Macheils J.H., et al. Biomarker analysis and final efficacy and safety results of a phase II renal cell carcinoma trial with pazopanib (GW786034), a multikinase angiogenesis inhibitor // *J Clin Oncol*. 2008; 26;15s (suppl; abstr 5046).
- Wehler Th.C., Graf C., Biesterfeld S. et al. Strong expression of chemokine receptor CXCR4 by renal cell carcinoma correlates with advanced disease // *Journal of Oncology*, 2008, Vol. 1. Hindawi Publishing Corporation, Sep. 29, 2008.
- D'Alterio C., Cindolo L., Portella L., Polimeno M., Consales C., Riccio A., Cioffi M., Franco R., Chiodini P., Carteni G., Mironi V., Longo N., Marra L., Perdonà S., Claudio L., Mascolo M., Staibano S., Falsaperla M., Puglisi M., Martignoni G., Ficarra V., Castello G., Scala S. Differential role of CD133 and CXCR4 in renal cell carcinoma // *Cell Cycle*. 2010 Nov 15;9(22):4492-4500.
- Shariat S., Karakiewicz P., Godoy G. et al. Survivin as a prognostic marker for urothelial carcinoma of the bladder: a multicenter external validation study // *Clinical Cancer Research*. 2009; 15(22):7012-9.
- Shariat S., Lotan Y., Saboorian H. et al. Survivin expression is associated with features of biologically aggressive prostate carcinoma // *Cancer*. 2004; 100(4):751-7.
- Mahotka C., Krieg T., Krieg A. et al. Distinct in vivo expression patterns of survivin splice variants in renal cell carcinomas // *Int J Cancer*. 2002 Jul 1; 100(1):30-6.
- Zamparese R., Pannone G., Santoro A. et al. Survivin expression in renal cell carcinoma // *Cancer Invest*. 2008 Nov 1; 26(9):929-35.
- Velickovic M., Delahunty B., McIver B., Grebe S.K.G. Intragenic PTEN/MMAC1 loss of heterozygosity in conventional (clear-cell) renal cell carcinoma is associated with poor patient prognosis // *Mod Pathol*. 2002 May 1; 15(5): 479-85
- Pantuck A.J., Seligson D.B., Klatte T., et al. Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma: Implications for molecular patient selection for targeted therapy // *Cancer*. 2007; 109: 2257-2267.
- Figlin R.A., de Souza P., McDermott D. et al. Analysis of PTEN and HIF-1alpha and correlation with efficacy in patients with advanced renal cell carcinoma treated with temsirolimus versus interferon-alpha // *Cancer*. 2009; 115: 3651-3660.
- Youssef T.A., Fahmy M.A., Koumakpayi I.H., et al. The mammalian target of rapamycin pathway is widely activated without PTEN deletion in renal cell carcinoma metastases // *Cancer*. 2010; 117: 290-300.
- Cho D., Signoretti S., Dabora S. et al. Potential histologic and molecular predictors of response to temsirolimus in patients with advanced renal cell carcinoma // *Clin Genitourin Cancer*. 2007; 5: 379-385.
- Hehlhans S., Cordes N. Caveolin-1: an essential modulator of cancer cell radio- and chemoresistance // *Am J Cancer Res* 2011; 1(4): 521-530.
- Campbell L., Jasani B., Edwards K., Gumbleton M., Griffiths D.F.R. Combined expression of caveolin-1 and an activated AKT/mTOR pathway predicts reduced disease-free survival in clinically confined renal cell carcinoma // *Br J Cancer*. 2008 Mar 11; 98(5): 931-40.
- Parisi F., González A.M., Nadler Y., Camp R.L., Rimm D.L., Kluger H.M. and Kluger Y. Benefits of biomarker selection and clinico-pathological covariate inclusion in breast cancer prognostic models // *Breast Cancer Res*. 2010; 12(5): R66. Published online 2010 September 1. doi:10.1186/bcr2633.
- Rini B.I., Zhou M., Aydin H., et al. Identification of prognostic genomic markers in patients with localized clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) // *J Clin Oncol*. 2010; 28:15s (suppl; abstr. 4501).
- Rioux-Leclercq N., Fergelot P., Zerrouki S., et al. Plasma level and tissue expression of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma: a prospective study of 50 cases // *Hum Pathol*. 2007 Oct 1; 38(10):1489-95.
- Negrier S., Perol D., Menetrier-Caux C., et al. Interleukin-6, interleukin-10, and vascular endothelial growth factor in metastatic renal cell carcinoma: prognostic value of interleukin-6 from the Groupe Français d'Immunothérapie // *J Clin Oncol*. 2004 Jun 15; 22(12): 2371-8.
- Schips L., Dalpiaz O., Lipsky K., et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and endostatin in renal cell carcinoma patients compared to a control group // *Eur Urol*. 2007 Jan 1; 51(1):168-73; discussion 74.
- Shariat S., Anwuri V., Lamb D., et al. Association of preoperative plasma levels of vascular endothelial growth factor and soluble vascular cell adhesion molecule-1 with lymph node status and biochemical progression after radical prostatectomy // *J Clin Oncol*. 2004; 22(9):1655-63.
- Deprimo S.E., Bello C.L., Smeraglia J., et al. Circulating protein biomarkers of pharmacodynamic activity of sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma: Modulation of VEGF and VEGF-related proteins // *J Transl Med*. 2007; 5:32.
- Hutson T.E., Davis I.D., Macheils J.H., et al. Biomarker analysis and final efficacy and safety results of a phase II renal cell carcinoma trial with pazopanib (GW786034), a multikinase angiogenesis inhibitor // *J Clin Oncol*. 2008; 26; 15s (suppl; abstr 5046).
- Bukowski R.M., Eisen T., Szczylik C., et al. Final results of the randomized phase III trial of sorafenib in advanced renal cell carcinoma: Survival and biomarker analysis // *J Clin Oncol*. 2007; 25:15s (suppl; abstr 5023).
- McKiernan J.M., Buttyan R., Bander N.H., et al. The detection of renal carcinoma cells in the peripheral blood with an enhanced reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for MN/CA9 // *Cancer*. 1999 Aug 1; 86(3):492-7.
- Zhou G.X., Ireland J., Rayman P., Finke J., Zhou M. Quantification of carbonic anhydrase IX expression in serum and tissue of renal cell carcinoma patients using enzyme-linked immunosorbent assay: prognostic and diagnostic potentials // *Urology*. 2010 Feb 1; 75(2): 257-61.
- Li G., Feng G., Gentil-Perret A., Genin C., Tostain J. Serum carbonic anhydrase 9 level is associated with postoperative 98 recurrence of conventional renal cell cancer // *J Urol*. 2008 Aug 1;180(2):510-3; discussion 3-4.
- Gilbert S.M., Whitson J.M., Mansukhani M., et al. Detection of carbonic anhydrase-9 gene expression in peripheral blood cells predicts risk of disease recurrence in patients with renal cortical tumors // *Urology*. 2006 May 1; 67(5):942-5.
- Atkins M., Regan M., McDermott D., et al. Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer // *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 3714-3721.
- Genega E.M., Ghebremichael M., Najarian R., et al. Carbonic anhydrase IX expression in renal neoplasms: Correlation with tumor type and grade // *Am J Clin Pathol*. 2010; 134: 873-879.
- Chow T.F., Mankaruos M., Scorilas A., Youssef Y., Girgis A., Mossad S., Metias S., Rofael Y., Honey R.J., Stewart R., et al. The miR-17-92 cluster is overexpressed in, and has an oncogenic effect on, renal cell carcinoma // *J Urol* 2010, 183:743-751.
- Neal C.S., Michael M.Z., Rawlings L.H., Van der Hoek M.B., Gleagle J.M. The VHL-dependent regulation of microRNAs in renal cell cancer // *BMC Med* 2010, 8:64.
- Chen Z., Li Y., Zhang H., Huang P., Luthra R. Hypoxia-regulated microRNA-210 modulates mitochondrial function and decreases ISCU and COX10 expression // *Oncogene* 2010, 29:4362-4368.
- Gonsalves C.S., Kalra V.K. Hypoxia-mediated expression of 5-lipoxygenase-activating protein involves HIF-1alpha and NF-kappaB and microRNAs 135a and 199a-5p // *J Immunol* 2010, 184:3878-3888.
- Muth M., Theophile K., Hussein K., Jacobi C., Kreipe H., Bock O. Hypoxia-induced down-regulation of microRNA-449a/b impairs control over targeted SERPINE1 (PAI-1) m // *J Transl Med* 2010, 8:33.
- Liu H., Brannon A.R., Reddy A.R., Alexe G., Seiler M.W., Arreola A., Oza J.H., Yao M., Juan D., Liou L.S., Ganesan S., Levine A.J., Rathmell W.K. and Bhanot G.V. Identifying mRNA targets of microRNA dysregulated in cancer: with application to clear cell Renal Cell Carcinoma // *BMC Systems Biology* 2010, 4:51; doi:10.1186/1752-0509-4-51.
- Mraz M., Pospisilova S., Malinova K., et al. MicroRNAs in chronic lymphocytic leukemia: pathogenesis and disease subtypes // *Leuk Lymphoma*. 2009 March; 50(3): 506-9.
- Nielsen B.S., Jørgensen S., Fog J.U., Søkilde R., Christensen I.J., Hansen U., Brønner N., Baker S., Møller S., Nielsen H.J. High levels of microRNA-21 in the stroma of colorectal cancers predict short disease-free survival in stage II colon cancer patients // *Clin Exp Metastasis*. 2010 Oct; 28(1): 27-38.
- Nakada C., Matsuura K., Tsukamoto Y., Tanigawa M., Yoshimoto T., Narimatsu T., Nguyen L.T., Hijiya N., Uchida T., Sato F., Mimata H., Seto M., Moriyama M. Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c // *J Pathol*. 2008 Dec; 216(4): 418-27.
- Gottardo F., Liu Ch.G., Ferracin M., Calin G.A., Fassan M., Bassi P., Sevignani C., Byrne D., Negrini M., Pagano F., Gomella L.G., M.D. Croce C.M., Baffa R. Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers // *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2007 Sept., V. 25 (5), P. 387-392.
- Slaby O., Jancovicova J., Lakomy R., Svoboda M., Poprach A., Fabian P., Kren L., Michalek J., Vyzula R. Research Expression of miRNA-106b in conventional renal cell carcinoma is a potential marker for prediction of early metastasis after nephrectomy // *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2010, 29:90 <http://www.jeccr.com/content/29/1/90>.
- Youssef Y.M., White N.M.A., Grigull J., Krizova A., Samy Ch., Mejia-Guerrero S., Evans A., Yousef G.M. Accurate Molecular Classification of Kidney Cancer Subtypes Using MicroRNA Signature // *European Urology*, 2011; Vol. 59 (5): e27-e32.
- Volpe A., Mattar K., Finelli A., Kachura J.R., Evans A.J., Geddie W.R., Jewett M.A. Contemporary results of percutaneous biopsy of 100 small renal masses: a single center experience // *J Urol*. 2008, Vol.180(6), P. 2333-2337.