

На правах рукописи

БРЕУС Анна Александровна

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЛОКАЛЬНОГО И ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО СВЕТЛОКЛЕТОЧНОГО
РАКА ПОЧКИ**

14.01.12-онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ростов-на-Дону – 2020

РАБОТА ВЫПОЛНЕНА В ФЕДЕРАЛЬНОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ БЮДЖЕТНОМ УЧРЕЖДЕНИИ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (генеральный директор – член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор **О.И. Кит**)

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Шевченко Алексей Николаевич

Научный консультант: доктор биологических наук, доцент
Дженкова Елена Алексеевна

Официальные оппоненты: **Котиева Инга Мовлиевна** – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры патологической физиологии

Перлин Дмитрий Владиславович – доктор медицинских наук, государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Волгоградский областной уронефрологический центр», главный врач

Ведущая организация: Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2020 г. в ___ часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д.208.083.02 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (344037, г. Ростов-на-Дону, 14 линия, 63).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте www.rnioi.ru ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Автореферат разослан: «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь совета по защите докторских и кандидатских диссертаций
доктор биологических наук, доцент

Е.А. Дженкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В 2018 году в Российской Федерации впервые-выявленный почечно-клеточный рак (ПКР) был диагностирован у 23 157 человек, при этом летальность в течение первого года составила 14,5%. Распространенность рака почки за последние 10 лет составила 121,1 на 100 тыс. населения. Почечноклеточный рак составляет 4,7% в структуре онкологической заболеваемости и занимает 9 место. На I и II стадии в 2018 г. выявили 64,2% больных, на III стадии – 14,8%, на IV стадии – 20,0%. Около 40,0% впервые выявленных злокачественных новообразований почек имеют III–IV стадию заболевания, что обуславливает достаточно высокий показатель одногодичной летальности. Прирост заболеваемости раком почки за 2007–2017 гг. составил 42,6%, и занял при этом лидирующую позицию, что связывают с улучшением методов диагностики данной патологии. Среднегодовой темп прироста составляет 3,45%. В настоящее время в 35–40% случаев заболевание выявляют инцидентально (Каприн А.Д. и соавт., 2019).

В настоящий период 5-летняя выживаемость в группе больных с I–II стадией заболевания составляет 80–90%, с III стадией – 50–60%. При IV стадии 5 лет живут всего 5–10% пациентов. Снижение показателя смертности от ПКР за 10 лет (с 2007 по 2017 гг.) составило 15,57%, а в 2018 г. смертность составила 8386 больных (Каприн А.Д. и соавт., 2018).

Светлоклеточный рак почки из всех гистологических типов наиболее распространен и составляет 75–85%. Течение заболевания чаще всего происходит бессимптомно, вследствие этого нередко факт установления злокачественного процесса впервые происходит на момент, когда уже имеется местное и отдалённое распространение заболевания. Непредсказуемость и высокоагрессивный потенциал прогрессии является уникальной особенностью почечно-клеточного рака (ПКР). Причина возникновения данной патологии не известна, но известны факторы риска, повышающие долю вероятности заболевания. Прогрессирование и распространение ПКР активно изучается в настоящее время (Li P. et al., 2015).

Интерес учёных и исследователей в минувшие годы вызывает изучение процесса неоангиогенеза при светлоклеточной карциноме почки, так как

считается, что именно для опухолевого роста и прогрессирования необходима активация неоангиогенеза и, как следствие, обеспечение жизнедеятельности самой опухоли (Герштейн Е.С. и соавт., 2017).

В настоящее время благодаря многочисленным экспериментальным и клиническим исследованиям оценена роль ангиогенных факторов в развитии рака почки. Но при этом прогностическое значение этих факторов до сих пор не изучено полностью.

Степень разработанности темы

В настоящее время в современной отечественной и зарубежной литературе активно обсуждается роль некоторых молекулярно-биологических факторов в процессе формирования, роста и развития почечноклеточного рака. Уровень Ki-67, по мнению ряда авторов, напрямую коррелирует со степенью дифференцировки опухоли, а также со стадией заболевания и наличием метастазов (Алексеев Б.Я. и соавт., 2011; Горбань Н.А. и соавт., 2016; Kim S.H. et al., 2017). В исследовании A.Q. Haddad et al. (2017) показано, что гиперэкспрессия циклина D1 коррелирует с плохим прогнозом больных. Известно, что положительная экспрессия виментина ассоциирована со снижением выживаемости пациентов с ПКР (Горелов А.И. и соавт., 2012). По результатам исследования авторов (Nawwaf S. et al., 2015; Lin J. et al., 2017) положительная экспрессия CD44 демонстрировала низкую выживаемость пациентов. Повышенная экспрессия EGF при раке почки усиливает инвазию и метастазирование опухоли, а частота экспрессии EGF-R составляет 50–90% (Тимаков М.А. и соавт., 2010). У больных с распространенным почечноклеточным раком в периферической крови наблюдалась гиперэкспрессия TuM2Pк, IL-12, FGF, VEGF IGF-1, TNF- α (Павлова Т.В. и соавт., 2018). По данным А.И. Тарасенко с соавт. (2018), значения таких биологических факторов как NGAL-липокалин, MMP-9 и IGF-1 связаны со степенью злокачественности опухолевых клеток, выявлена достоверная сильная корреляционная связь между уровнем MMP-9 и NGAL-липокалином в сыворотке крови больных ПКР. Активация экспрессии MMP-9 трактуется как неблагоприятный фактор прогноза, ассоциированный со снижением продолжительности жизни больных (Kallakury B.V. et al., 2001; Zhang L. et al., 2013; Wu D. et al., 2014).

В перечисленных работах приводятся данные об экспрессии маркеров при локальном и генерализованном раке почки в сыворотке крови и опухоли, однако отсутствуют сведения об уровне онкомаркеров в условно интактной ткани и перитуморальной зоне почки. На наш взгляд, сравнительное изучение молекулярно-биологических факторов при светлоклеточном раке почки с различной распространенностью злокачественного процесса позволит расширить представления об их роли в патогенезе заболевания и выявить значимые маркеры прогрессирования.

Цель исследования

Оценить прогностическую роль молекулярно-биологических факторов у больных светлоклеточным раком почки.

Поставленная цель достигалась решением следующих **задач**:

1. Изучить уровень факторов роста и их рецепторов в тканях почки (VEGF-A, VEGF-D, VEGFR1, EGF, EGFR1, FGF), крови (VEGF-A, NGAL-липокалин, IGFBP3) у больных локальным и генерализованным светлоклеточным раком почки.
2. Изучить особенности содержания инсулиноподобных факторов роста, связывающих белков (IGF1, IGF2, IGFBP1, IGFBP2) и соматотропного гормона-рилизинга (СТГ-рилизинг) в тканях почки больных светлоклеточным раком почки.
3. Провести иммуногистохимическое исследование в опухолевых тканях почки с определением факторов регуляции апоптоза, неоангиогенеза, роста, пролиферации и регуляции клеточного деления (Ki-67, циклин D1, Е-кадгерин, CD44, MMP-9, p53, виментин, VEGF).
4. Оценить значение изученных показателей при светлоклеточном раке почки для улучшения прогнозирования течения заболевания с помощью ROC-анализа.

Научная новизна исследования

В диссертационной работе впервые:

- показано прогностическое значение факторов роста при светлоклеточном раке почки;
- выявлены особенности в содержании инсулиноподобных факторов

роста и соматотропного гормона-рилизинга в тканевом профиле почки больных светлоклеточным раком почки;

- показано, что независимо от степени распространенности светлоклеточной карциномы почки распределение белок-связывающего инсулиноподобного фактора роста 2-го типа (IGFBP-2) в тканях опухоли и морфологически неизмененных тканях почки имеет половую специфику;

- проведено сравнительное иммуногистохимическое исследование в тканях светлоклеточного рака почки, которое при генерализованном процессе показало гиперэкспрессию циклина D1, снижение экспрессии E-кадгерина при одновременной гиперэкспрессии виментина и CD44, что является прогностическими признаками прогрессирования заболевания;

- проведен многофакторный анализ молекулярно-биологических факторов для улучшения прогнозирования течения заболевания у больных светлоклеточным раком почки.

Теоретическая и практическая значимость работы

Исследование позволило расширить знания о роли маркеров пролиферации, апоптоза, регуляции клеточного деления и ростовых факторов в патогенезе локального и генерализованного светлоклеточного рака почки.

Определены локальные диагностически значимые биомаркеры и их критические точки разделения, позволяющие с высокой диагностической эффективностью прогнозировать течение светлоклеточного рака почки.

Выявлены иммуногистохимические признаки, характерные для генерализованной светлоклеточной карциномы почки, которые можно активно применять в качестве дополнительных критериев оценки прогноза.

Предложен способ прогнозирования развития рецидивов и/или метастазов у больных локальным светлоклеточным раком почки.

Методология и методы диссертационного исследования

Диссертация логически структурирована, представленные результаты основаны на изучении большого клинического материала (100 больных светлоклеточным раком почки). Клинико-лабораторные исследования проведены с применением современных методов статистического анализа, что делает полученные данные убедительными и достоверными. Лабораторные исследования выполнены с использованием лабораторно-инструментальных,

морфоиммуногистохимических, иммунологических и статистических методов.

Основное положение, выносимое на защиту

Патогенетически значимым аспектом прогрессии светлоклеточного рака почки является дисбаланс факторов регуляции апоптоза, неоангиогенеза, роста, пролиферации и регуляции клеточного деления

Внедрение результатов исследования в практику здравоохранения

Результаты данного исследования используются в повседневной практике клиничко-диагностического и онкоурологического отделений ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов работы

На основе изучения определенного комплекса иммунологических, иммуногистохимических методов автором лично исследованы и выявлены локальные патогенетические сдвиги при локальном и генерализованном раке почки. Достоверность полученных результатов подтверждена мультипараметрическим анализом данных лабораторных исследований с привлечением современных методов статистики.

Апробация результатов работы проводилась на заседании Ученого совета ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России (протокол №12 от 26.09.2019). Основные положения диссертации доложены в виде устных докладов на конгрессах, съездах и конференциях: XII Международной (XXI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2017); на конференции Российского общества онкоурологов в Южно-федеральном округе «Диагностика и лечение рака почки» (Ростов-на-Дону, 2018); на Первом Международном Форуме онкологов и радиологов (Москва, 2018); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Ростов-на-Дону, 2018).

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 3 – в журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России (1 входит в международную научную базу Web of Science), получен 1 патент на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 144 страницах компьютерного

текста, состоит из введения, обзора литературы, характеристики материала и методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 104 отечественных и 145 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 42 таблицами, 32 рисунками.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют пункту 2 «Исследования по изучению этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии и др.)» паспорта специальности 14.01.12-«онкология».

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика больных, методы лечения и исследований

Проведение научного исследования одобрено Этическим Комитетом института (протокол №22 от 18.11.15 г.). Все больные дали добровольное информированное согласие на проведение иммунологического исследования крови, а также иммуногистохимического, иммунологического исследования операционного материала, а также на участие в научном исследовании и публикацию полученных результатов.

Основу исследования составили данные обследования 100 больных с гистологически подтверждённым светлоклеточным раком почки, подвергнутых противоопухолевому лечению в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава Российской Федерации с 2015 по 2018 годы. Все пациенты, входящие в исследование были разделены на две группы: первая группа – 50 больных с клинически и морфологически подтверждённым локальным раком почки, вторая группа – 50 больных с генерализованным раком почки.

Все больные прошли предоперационное обследование: осмотр и физикальное обследование, общеклиническое и лабораторное исследования, комплексное ультразвуковое исследование мочеполовой системы, КТ органов грудной клетки, брюшной полости и/или МРТ, нефросцинтиграфию и/или обзорную + экскреторную урографию.

Осуществлённое до начала лечения обследование пациентов также включало в себя общий и биохимический анализы крови (определение уровня креатинина, мочевины), коагулограмму, электрокардиографию и спирометрию. Больным с диссеминированным раком почки для оценки прогноза использовалась прогностическая модель IMDC (Heng D., 2010), которая представляет собой дополненную модель Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC). Оценивался соматический статус по индексу Карновского (ECOG).

Все больные, включенные в наше исследование, подвергались хирургическому лечению в объеме: нефрэктомия, нефрадrenalэктомия (лапароскопическая или открытая).

Методика иммуноферментного анализа

Объектом исследования была сыворотка крови больных и ткани почки (опухоль, перифокальная зона, условно интактные ткани), полученные при хирургическом лечении 100 больных с гистологически подтвержденным светлоклеточным вариантом рака почки (локальный рак (T1-3aN0M0) n=50 и генерализованный (T1-4N0M1) – n=50. Тканью перифокальной зоны считали образцы на расстоянии 1 см от видимого края опухоли. Образцы опухоли, ее перифокальной зоны и условно интактной ткани были взяты во время операции и заморожены для дальнейшего хранения при температуре – 70°C с последующим биохимическим исследованием.

В сыворотке крови больных и в 10% цитозольных фракциях ткани почки, приготовленных на калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1% Твин-20 методом ИФА с использованием стандартных тест-систем определяли уровень следующих биохимических показателей VEGF-A, VEGF-R1 (BenderMedSystem, Австрия), VEGF-D (R&D System, США), EGF, EGFR (CUSABIO BIOTECH Co.,Ltd., Китай), IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3 (Mediagnost Германия), СТГ-рилизинг (Peninsula Laboratories International США) NGAL-липокалин, (BCMDiagnostics, США). Определение уровня исследуемых факторов роста проводили вслепую, не имея какой-либо клинической информации о больных.

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6,0 (Stat-Soft, 2001). Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, а m – стандартная ошибка

среднего. Разницу отличий оценивали по t-критерию Стьюдента и считали достоверной при $p < 0,05$.

Для оценки прогностически неблагоприятных факторов, достоверно влияющих на генерализацию опухолевого процесса, применялись бинарная логистическая регрессия и ROC-анализ, выполненные с помощью программы MedCalc Statistics 15.8. В качестве зависимой переменной был определен бинарный признак 1 – генерализованный рак почки и 0 – локальный рак почки. Отбор независимых переменных для включения в модели осуществлялся при помощи оценки значимости различий между группами пациентов с генерализованным раком и локальным раком почки. Для построения прогностических моделей были выбраны признаки с $p < 0,05$. При интерпретации показателя площади под кривой (AUC – Area Under Curve) использовали общепризнанную экспертную шкалу (Metz С.Е. et al., 2000).

Метод иммуногистохимического исследования

Операционный материал для исследования фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 24 часов, заливали в парафин. С полученных парафиновых блоков готовили срезы толщиной 3-4 мкм, которые наносили на стекла с высокоадгезивным полизиновым покрытием и высушивали при температуре 56°C в течение 18 часов. Депарафинизацию и восстановление антигенной активности проводили в РТ-модуле («РТ Module», Thermo Fisher Scientific) с использованием специальных буферов в течение 20 мин при 98°C с последующим остыванием до 65°C.

Затем препараты сразу переносили в промывочный Трис буфер $pH=7,6-7,8$ и выдерживали 20 мин при комнатной температуре. Далее препараты помещали в автоматический иммуногистостейнер («Autostainer 480S», Thermo Fisher Scientific), где и проводилась вся процедура иммуногистохимической реакции.

Рабочее разбавление антител подбирали опытным путем на срезах контрольных тканей. В качестве детекционной системы применяли Ultra Vision Quanto Detection System (Thermo Scientific), в качестве хромогена – диаминобензидин (DAB).

После проведения ИГХ реакции докрашивали срезы гематоксилином Майера.

Результаты реакций с маркерами оценивали, подсчитывая количество окрашенных клеток в каждом 3-м поле зрения всего препарата при увеличении объектива X400 в микроскопе AXIO Scope.A1 (Carl Zeiss). Полученные результаты выражали в процентах – доля окрашенных клеток по отношению ко всем клеткам опухоли в поле зрения.

Для статистической обработки результатов использовали параметрические методы статистики для показателей вариационного ряда: средняя арифметическая (M), ошибка средней (m), медиана (Me), коэффициент вариации (C.V.). Достоверность разницы между двумя средними определяли с помощью t-критерия Стьюдента и считали значимой при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При иммуноферментном определении факторов роста эндотелия сосудов в тканях почки при локальном и генерализованном раке почки были выявлены различия в уровне активаторов и ингибиторов неангиогенеза, представленных индуктором – VEGF-A и ингибитором – растворимым рецептором sVEGF-R1 (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание факторов неангиогенеза в тканях почки при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки

| Показатель | Локальный рак, n=50 | | | Генерализованный рак, n=50 | | |
|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| | ИТ | ТПЗ | ОТ | ИТ | ТПЗ | ОТ |
| VEGF-A пг/г тк | 11127,6 ±1069,4 | 10495,1 ±971,3 | 7638,6± 650,2 ¹ | 6593,2± 542,0 | 4954,7± 436,3 ¹ | 18515,4± 1664,1 ¹ |
| sVEGF-R1 нг/г тк | 126,9±11,1 | 124,2±13,9 | 69,9±5,6 ¹ | 111,3±6,4 | 107,6±8,7 | 42,6±2,9 ¹ |
| VEGF-A/ sVEGF-R1 | 87,7±6,5 | 84,5±5,9 | 109,3±8,9 ¹ | 59,2±4,8 | 46,0±4,2 | 434,3±28,7 ₁ |

Примечание. 1 – статистически в условно интактной ткани; 2 – статистически значимо по отношению к соответствующему показателю при локальном процессе (ИТ – условно интактная ткань, ТПЗ – ткань перифокальной зоны; ОТ – опухолевая ткань)

Так, при локальном раке почки в ткани опухоли содержание VEGF-A было статистически значимо ниже на 31% в сравнении с условно интактной тканью. Уровень растворимого рецептора – sVEGF-R1 в опухолевой ткани также был снижен на 45% относительно значений в условно интактной ткани. При этом в ткани перифокальной зоны содержание как VEGF-A, так и sVEGF-R1 достоверно не отличалось от соответствующих величин в условно

интактной ткани почки (таблица 1). Тот факт, что при локальном раке почки содержание VEGF-A в ткани опухоли оказалось ниже, чем в морфологически неизмененных тканях почки оказался несколько неожиданным для нас. По общепринятому мнению (Хоченкова Ю.А. и соавт., 2013; Тырсина Е.Г. и соавт., 2015), для злокачественных новообразований характерна активация неоангиогенеза и повышение уровня VEGF-A в опухоли в сравнении с неповрежденными тканями. При локальном раке почки нами обнаружены противоположные изменения – более высокие значения VEGF-A отмечались в тканях почки, не затронутых злокачественным процессом. В условно интактной ткани и ткани перифокальной зоны также был выявлен и более высокий уровень ингибитора неоангиогенеза sVEGF-R1. Однако при расчёте соотношения VEGF-A/sVEGF-R1, которое отражает содержание свободного эндотелиального фактора и характеризует ангиогенную активность в ткани (Кит О.И. и соавт., 2018), оказалось, что значения VEGF-A/sVEGF-R1 в опухолевой ткани статистически значимо выше в среднем на 25%, чем в морфологически неизмененных тканях (таблица 1). Это указывает на повышенный ангиогенный потенциал опухолевой ткани при локальном раке почки, даже при сниженном содержании VEGF-A.

При генерализованном раке почки выявлено существенное увеличение уровня VEGF-A в ткани опухоли в – 2,8 раза и снижение содержания растворимого рецептора sVEGF-R1 на 61,7% по сравнению со значениями в условно интактной ткани почки (табл. 1). Подобные изменения привели к более чем семикратному повышению коэффициента VEGF-A/sVEGF-R1 (табл. 1), что свидетельствует о значительном повышении ангиогенной активности в опухоли при генерализованном раке почки. При этом в ткани перифокальной зоны при генерализованных формах ПКР обнаружено достоверное снижение уровня VEGF-A на 25% относительно величин в условно интактной ткани почки (таблица 1). Мы полагаем, что зафиксированные изменения компонентов ангиогенной системы именно при генерализованном раке почки подкрепляют классические представления о неоангиогенезе (Повещенко А.Ф. и соавт., 2010, Нефедова Н.А. и соавт., 2015 Спирина Л.В. и соавт., 2012) и наглядно демонстрируют участие ангиогенных факторов в активации неоангиогенеза при прогрессировании злокачественного процесса.

Интересные результаты были получены при сопоставлении уровня VEGF-A в тканях почки больных локальным и генерализованным ПКР. При генерализованном процессе в сравнении с локальным содержание VEGF-A в ткани опухоли возросло в 2,4 раза (таблица 1), а в ткани перифокальной зоны и условно интактной ткани почки снизилось в 2,1 раза и 1,7 раза соответственно (рисунок 1). По всей видимости, разбалансировка и снижение уровня VEGF-A в морфологически неизмененных тканях, и нарастание ангиогенного фактора роста непосредственно в самой опухоли, способствует дальнейшему распространению опухоли, т.е. генерализации.

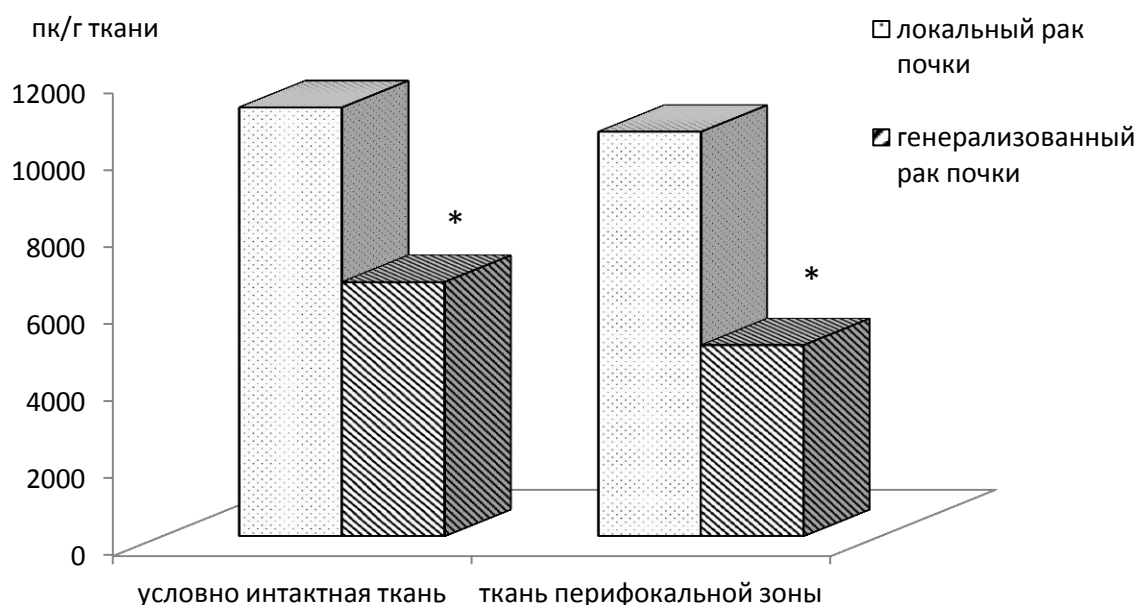


Рисунок 1 – Содержание VEGF-A (пк/г ткани) в условно интактной ткани и ткани перифокальной зоны при локальном и генерализованном раке почки;
Примечание: * – статистически значимые различия локального процесса относительно генерализованного

Исходя из полученных результатов, нами был разработан «Способ прогнозирования течения заболевания у больных локальным почечно-клеточным раком почки» (Патент РФ № 2674677, заявл. 15.02.2018; опубл. 12.12.2018). Суть его сводится к тому, что во время оперативного вмешательства у больных локальным почечно-клеточным раком T_{1-3a}N₀M₀ забирают образцы опухолевой ткани и ткани перифокальной зоны и рассчитывают соотношение содержания VEGF-A в опухолевой ткани к содержанию VEGF-A в перифокальной зоне. При значении соотношения менее или равном 1,0 прогнозируют отсутствие развития рецидивов и/или метастазов,

а при значении его более 1,0 прогнозируют развитие рецидивов и/или метастазов в ближайшие сроки наблюдения.

При изучении в тканях почки фактора роста фибробластов – FGF были выявлены различия в его содержании при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки (рисунок 2).

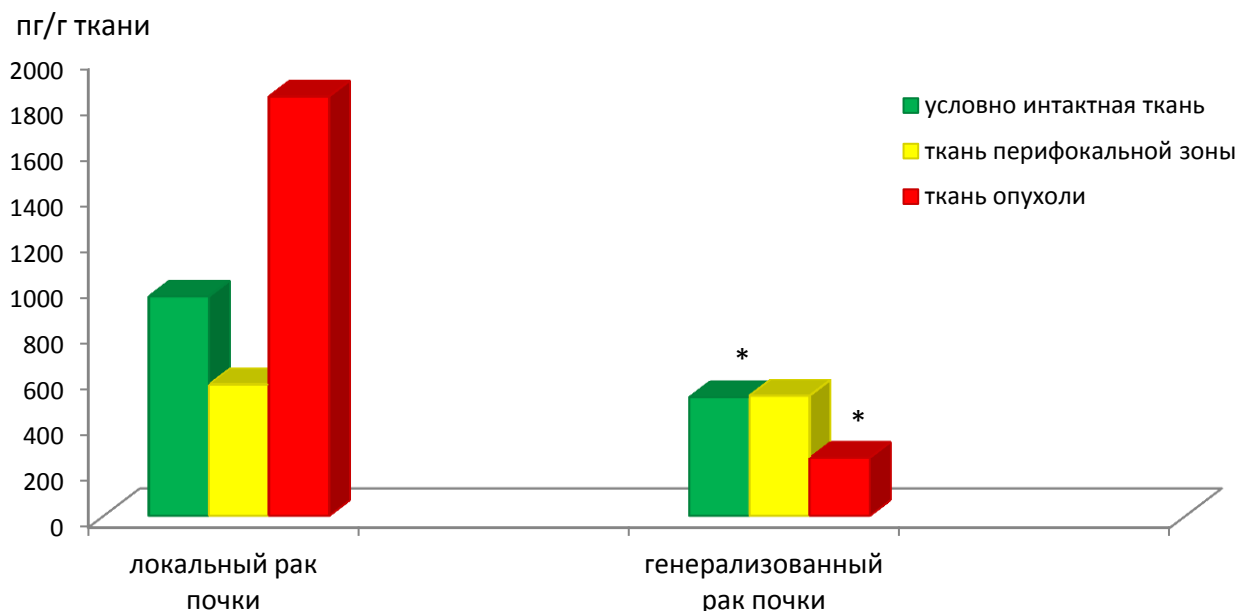


Рисунок 2 – Уровень FGF (пг/г ткани) в тканях почки при локальном и генерализованном процессах. * – статистически значимые различия между локальной и генерализованной формой рака почки

Так при локальном раке почки, уровень FGF в опухоли в 1,9 раза превосходил значения в условно интактной ткани и в 3,2 раза – в ткани перифокальной зоны. В отличие от локального процесса, при генерализованном уровень FGF в опухоли был значительно снижен по сравнению с условно интактной тканью и перифокальной зоной – в среднем в 2 раза. При локальном раке почки содержание FGF в опухолевой ткани в 7,2 раза превышало соответствующие величины при генерализованном процессе. Поскольку известно, что FGF обладает амплифицирующей способностью к увеличению экспрессии ангиогенных факторов (Феофанова Е.В. и соавт., 2013; Andres G. et al., 2009), можно предположить, что при локальном почечно-клеточный рак высокий уровень FGF необходим для стимуляции аутокринной продукции опухолью VEGF-A, содержание которого, согласно полученным нами результатам, существенно возросло при генерализации светлоклеточного рака почки.

Исследование сигнальной системы EGF – EGF-R в тканях почки показало, что как при локальном, так и при генерализованном процессе уровень эпидермального фактора роста EGF в опухолевой ткани был резко снижен (более чем в 10 раз) по сравнению с соответствующими значениями в условно интактной ткани и ткани перифокальной зоны, а содержание рецептора EGF-R, напротив, было повышено в ткани опухоли относительно величин в морфологически неизмененных тканях. При этом достоверных различий между группами с локальным и генерализованным ПКР выявлено не было. Однако, следует отметить, что в ткани метастаза светлоклеточного рака почки содержание EGF в среднем в 3 раза превышало соответствующие величины в первичном опухолевом очаге при локальном и генерализованном процессе. Зафиксированные в ткани метастаза изменения подтверждают современные представления о том, что увеличение продукции EGF напрямую коррелирует со степенью агрессивности опухоли, является негативным прогностическим фактором, и указывает на то, что опухоль становится независимой от управляющей системы, контролирующей злокачественный процесс (Аль-Шукри С.Х. и соавт., 2006; Гапеенко Е.В. и соавт., 2013; Маслякова Г.Н. и соавт., 2013).

При изучении семейства инсулиноподобных факторов роста в тканях почки больных светлоклеточной карциномой почки были выявлены половые различия, в связи с этим биохимические результаты были проанализированы не только в зависимости от распространенности злокачественного процесса, но и учетом половой принадлежности пациентов (таблица 2, 3).

Были зафиксированы достоверные различия для большинства исследованных показателей между группами мужчин и женщин (таблица 2, 3). Однако особое внимание привлек к себе IGFBP-2: как при локальном, так и при генерализованном процессе только значения данного показателя характеризовались статистически значимыми половыми различиями во всем тканевом профиле почки – в опухолевой и условно интактной тканях его содержание было выше у мужчин, а в ткани перифокальной зоны – у женщин ($p < 0,05$). Так, при локальном раке почки у мужчин в сравнении с женщинами содержание IGFBP-2 было выше в опухолевой ткани в 2,1 раза, в интактной ткани – в 1,8 раза соответственно, а в перифокальной зоне снижено в 1,4 раза.

Таблица 2 – Уровень инсулиноподобных факторов роста, связывающих белков и СТГ-релизинга в тканях почки при локальном светлоклеточном раке почки в зависимости от половой принадлежности пациентов

| Показатель | Условно интактная ткань | | Ткань перифокальной зоны | | Ткань опухоли | |
|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Мужчины n=35 | Женщины n=15 | Мужчины n=35 | Женщины n=15 | Мужчины n=35 | Женщины n=15 |
| IGF-1 нг/г тк | 1669,7±187 | 1784±166 | 1541±160 | 1755,5±144 | 281,6±12,1 ¹ | 211,3±11, ^{1,2} |
| IGF-2 нг/г тк | 157,1±14 | 156,3±14,6 | 134,1±11 | 141,2±12,1 | 13,7±0,9 ¹ | 11,2±0,9 ¹ |
| IGFBP-1 нг/г тк | 37,3±2,9 | 31,1±2,7 | 14,8±1,1 ¹ | 17,1±1,0 ¹ | 0,77±0,05 ¹ | 0,55±0,03 ^{1,2} |
| IGFBP-2 нг/г тк | 97,91±6,2 | 54,4±3,1 ² | 48,9±3,3 ¹ | 67,5±3,7 ² | 19,1±0,9 ¹ | 9,2±0,7 ^{1,2} |
| СТГ- релизинг нг/г тк | 44,3±3,2 | 26,4±1,9 ² | 50,3±4,1 | 26,1±1,7 ² | 228±18,1 ¹ | 209±17,4 ¹ |

Примечание: 1 – статистически значимо по отношению к соответствующим показателям в условно интактной ткани; 2 – статистически значимо по отношению к соответствующим показателям у мужчин

Таблица 3 – Уровень инсулиноподобных факторов роста, связывающих белков и СТГ-релизинга в тканях почки при генерализованном светлоклеточном раке почки в зависимости от половой принадлежности пациентов

| Показатель | Условно интактная ткань | | Ткань перифокальной зоны | | Ткань опухоли | |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Мужчины n=31 | Женщины n=19 | Мужчины n=31 | Женщины n=19 | Мужчины n=31 | Женщины n=19 |
| IGF-1 нг/г тк | 1911,3±187 | 1820,2±179 | 1546,0±148 | 1528,9±151 | 97,5±6,5 ^{1,3} | 165,9±8,7 ^{1,2,3} |
| IGF-2 нг/г тк | 130,4±11,2 | 132,8±11,1 | 133,7±10,8 | 133,3±10,7 | 12,6±0,7 ¹ | 8,7±0,7 ^{1,2} |
| IGFBP-1 нг/г тк | 41,0±2,7 | 19,7±1,1 ^{2,3} | 14,1±1,1 ¹ | 18,2±1,3 | 1,5±0,08 ^{1,3} | 1,3±0,08 ^{1,3} |
| IGFBP-2 нг/г тк | 126,2±10,9 | 47,3±3,7 ² | 42,2±3,5 ¹ | 60,7±5,4 ^{1,2} | 71,08±5,9 ^{1,3} | 25,3±1,8 ^{2,3} |
| СТГ- релизинг нг/г тк | 58,7±4,7 | 62,7±4,9 ³ | 38,45±2,8 ¹ | 55,6±3,9 ² | 160,0±12,1 ^{1,3} | 102,6±8,9 ^{2,3} |

Примечание: 1 – статистически значимо по отношению к соответствующим показателям в условно интактной ткани; 2 – статистически значимо по отношению к соответствующим показателям у мужчин; 3 – статистически значимо по отношению к соответствующим показателям в ткани локального рака почки

При генерализованном процессе у мужчин в сравнении с женщинами содержание IGFBP-2 было выше в опухолевой ткани в 2,8 раза, в интактной ткани – в 2,7 раза соответственно, а в перифокальной зоне снижено в 1,4 раза.

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что распределение IGFBP-2 в тканях почки имеет половую специфику независимо от степени распространенности светлоклеточного рака почки и в наибольшей степени характеризует половые различия в реакции на опухолевый процесс.

При изучении компонентов инсулиноподобного сигнального пути в тканях почки в зависимости от степени распространенности светлоклеточного рака почки было установлено, что как при локальном, так и при генерализованном процессе у пациентов обоего пола в опухолевой ткани содержание IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-2 было резко снижено относительно значений в условно интактной ткани, в то время как уровень СТГ-релизинга напротив был существенно повышен в ткани опухоли (таблица 2, 3). При этом при генерализованном раке почки в сравнении с локальным в опухолевой ткани наблюдалось достоверное снижение значений IGF-1 и СТГ-релизинга и возрастание уровня IGF-связывающих белков (таблица 2, 3). Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов, показавших, что продукция IGFs в опухолевой ткани светлоклеточного рака почки заблокирована, а промитотические и антиапоптотические эффекты инсулиноподобных факторов роста реализуются после присоединения к IGFR-1 (Braczkowski R. et al., 2016). Полагаем, что низкое содержание инсулиноподобных факторов роста и связывающих их белков и высокий уровень СТГ-релизинг гормона в опухолевой ткани, является общей патофизиологической особенностью, характеризующей почечно-клеточную карциному.

В результате сравнительного изучения ряда иммуногистохимических маркеров в опухолевой ткани при локальном и генерализованном раке почки были получены следующие результаты. При генерализованном процессе были отмечены статистически значимые изменения для большинства из исследованных показателей (за исключением MMP-9). При генерализованных формах рака почки в отличие от локального экспрессия супрессора опухолевого роста p53 выявлялась, но уровень ее был крайне низким – в среднем $3,8 \pm 0,7\%$; также низкой оставалась и экспрессия маркера пролиферативной активности Ki-67 – в среднем $8 \pm 0,5\%$ (таблица. 4). Тем не менее, разница значений этих показателей в сравнении с соответствующими величинами при локальном раке почки была достоверной ($p < 0,05$).

Таблица 4 – Экспрессия маркеров пролиферативной активности и опухолевой супрессии при локальном (n=50) и генерализованном (n=50) раке почки

| ИГХ маркер | Рак почки | Статистический показатель | | | |
|------------|------------------|---------------------------|-----------|-------------|------|
| | | min/max (%) | M±m (%) | Mediana (%) | C.V. |
| Ki-67 | локальный | 2/10 | 5±0,6* | 3 | 61,9 |
| | генерализованный | 5/10 | 8±0,5* | 10 | 31,3 |
| Циклин D1 | локальный | 5/30 | 14,4±2,3• | 7 | 76,8 |
| | генерализованный | 40/90 | 70±3,9• | 70 | 27,7 |
| p53 | локальный | 0 | 0• | 0 | 0 |
| | генерализованный | 0/10 | 3,8±0,7• | 3 | 95,2 |

Примечание. разница показателей помеченных одинаковыми символами (* или •) достоверна с $p < 0,05$

Иная картина наблюдалась по уровню экспрессии циклина D1. При генерализованных формах заболевания отмечалась гиперэкспрессия этого маркера – не менее чем в 40% опухолевых клеток. В ряде случаев этот маркер экспрессировали до 80–90% клеток опухоли (таблица 4). В сравнении с локальным раком почки средние значения показателя возросли в 4,8 раза. Исходя из полученных результатов, определение экспрессии циклина D1 является более информативным, чем определение экспрессии Ki-67 для диагностики прогрессирования светлоклеточной карциномы почки.

При генерализованном РП экспрессия маркера клеточной адгезии Е-кадгерина была почти вдвое ниже, чем при локальном: $29 \pm 3,1$ против $53 \pm 7,2\%$ соответственно ($p < 0,05$). Медиана при локальном РП равнялась 25%, при генерализованном 15%, с небольшим коэффициентом вариации – 21,3 (таблица 5). Виментин значимо чаще экспрессировали клетки опухоли при генерализованной форме РП – от 25% до 80% опухолевых клеток (таблица 5). В сравнении с локальным раком почки при генерализованном экспрессия виментина возросла практически в 2 раза ($p < 0,05$). Обнаруженные нами изменения значений Е-кадгерина и виментина указывают на формирование процессов эпителиально-мезенхимальной трансформации в опухолевых клетках при прогрессировании светлоклеточного рака почки, что может способствовать усилению инвазивных свойств опухоли.

При генерализованном раке почки было установлено достоверное

увеличение экспрессии маркера межклеточных взаимодействий CD44 – практически 2 раза в сравнении с локальным процессом, и маркера неоангиогенеза VEGF в среднем на 32% в сравнении с локальным раком почки (таблица 5). Если при локальном процессе VEGF продуцировали от 15 до 60% опухолевых клеток, то при генерализованном – от 80 до 100% соответственно, что может представлять определенный интерес в связи с разработкой и внедрением в практику методов антиангиогенной таргетной терапии.

Таблица 5 – Экспрессия маркеров адгезии и деградации внеклеточного матрикса а также маркеров неоангиогенеза при локальном (n=50) и генерализованном (n=50) раке почки

| Маркер ИГХ | Рак почки | Статистический показатель | | | |
|------------|------------------|---------------------------|-----------------------|-------------|-------|
| | | min/max (%) | M±m (%) | Mediana (%) | C.V. |
| Е-кадгерин | локальный | 10/65 | 53±7,2* | 25 | 44,8 |
| | генерализованный | 5/35 | 29±3,1* | 15 | 21,3 |
| CD44 | локальный | 5/30 | 19,8±5,3 [•] | 10 | 81,1 |
| | генерализованный | 20/65 | 36,4±5,9 [•] | 40 | 38,8 |
| Виментин | локальный | 0/60 | 39±9,1 [▲] | 10 | 114,8 |
| | генерализованный | 25/80 | 67±6,1 [▲] | 70 | 44,3 |
| MMP-9 | локальный | 20/90 | 50±6 | 30 | 59,2 |
| | генерализованный | 30/90 | 49,6±7,2 | 60 | 71,6 |
| VEGF | локальный | 15/60 | 53±7,9* | 40 | 73,3 |
| | генерализованный | 80/100 | 85±1,6* | 85 | 9,3 |

Примечание. разница показателей помеченных одинаковыми символами (*, •, ▲) достоверна с $p < 0,05$

Таким образом, результаты анализа иммуногистохимических факторов свидетельствуют о том, что наиболее информативными маркерами для прогнозирования прогрессии светлоклеточного рака почки являются значения экспрессии циклина D1, CD44, Е-кадгерина и виментина.

Использование метода ROC-анализа позволяет выбрать критерий, обладающий наибольшей предсказательной способностью. С помощью метода трапеций вычислялся численный ППК – показатель площади под ROC-кривой (AUC – Area Under Curve). Теоретически AUC варьирует в диапазоне от 0,5 до 1,0, причем, чем выше этот показатель – тем качественнее модель.

Для определения качества бинарного классификатора рассчитывают два показателя: диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность модели. Чувствительный диагностический тест проявляется в гипердиагностике – максимальном предотвращении пропуска больных, а специфичный диагностический тест диагностирует только доподлинно больных. Это важно в случае, когда, например, лечение больного связано с серьезными побочными эффектами и гипердиагностика пациентов нежелательна.

Критерий нулевого значения Z логистической регрессии – это критерий, при котором порог выставляется в точку, где значение Z логистической регрессии равно нулю. Чем выше значения Z , тем ниже вероятность ложного результата – ошибки. Понятие – 95% доверительный интервал соответствует значениям площади ROC-кривой, находящихся в определенном диапазоне значений.

При сравнении значений ростовых факторов в опухолевой ткани при локальном и генерализованном процессе диагностической точкой разделения или точкой «cut-off» между локальной формой рака почки и генерализованной для VEGF-A оказался уровень 9622,5 пг/г ткани, для FGF – величина 435,1 пг/г ткани и для СТГ-рилизинга – 158,6 нг/г ткани (таблица 6).

Таблица 6 – Оценка диагностической информативности определения VEGF-A, FGF и СТГ-рилизинга, показатели площади под кривыми ROC-анализа при диагностике генерализованного рака почки в опухолевой ткани

| Биомаркер и критерий разграничения | ДЧ % | ДС % | Интервал ППК (AUC) | 95% Доверительный интервал | z статистика | P (vs AUC=0,5) |
|------------------------------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|--------------|----------------|
| VEGF-A > 9622,5 пг/г ткани | 90,91 | 78,57 | 0,883±0,0773 | 0,692 – 0,976 | 4,9 | p<0,0001 |
| FGF ≤435,1 пг/г ткани | 90,91 | 78,57 | 0,877±0,0695 | 0,684– 0,973 | 5,419 | p<0,0001 |
| СТГ-рилизинг нг/г ткани | 81,82 | 100,0 | 0,950±0,042 | 0,765–0,998 | 10,730 | p<0,0001 |

Примечание. ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность, интервал ППК (AUC) – показатель площади под ROC-кривой

Если в опухолевой ткани VEGF-A > 9622,5 пг/г ткани, то можно говорить о генерализованном процессе с диагностической чувствительностью (ДЧ) – 90,9% и специфичностью (ДС) – 78,6% (p<0,0001). Если FGF ≤ 435,1 пг/г ткани, то принимается решение в пользу генерализованного процесса с диагностической чувствительностью 90,91% и специфичностью 78,57%

($p < 0,0001$). Диагностическая чувствительность определения СТГ-рилизинга составила 81,82%, а диагностическая специфичность – 100% ($p < 0,0001$); параметры, характеризующие высокую степень значимости (z statistic=10,730 и 95%; Доверительный интервал 0,765–0,998) так же отличались высокими значениями.

В результате проведенного ROC-анализа биомаркеров, определяемых в перифокальных зонах локального и генерализованного рака почки, выявили, что о генерализации процесса можно судить по VEGF-A с пороговым значением 5839,6 (пг/г ткани) (рисунок 3).

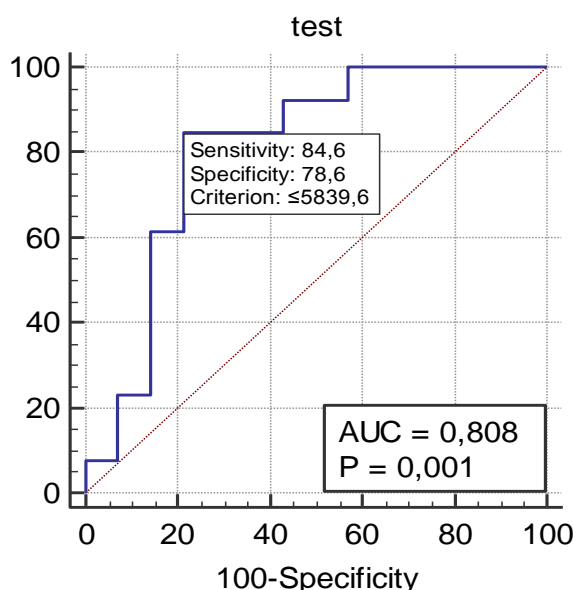


Рисунок 3 – Соотношение чувствительности (sensitivity), специфичности (specificity) и AUC – показатель площади под ROC-кривой (ППК) при определении VEGF-A в тканях перифокальной зоны при локальном и генерализованном раке почки

Проведение ROC-анализа биомаркеров в условно интактной ткани почки при локальном и генерализованном раке выявило, что диагностической точкой разделения для VEGF-A был уровень 9107,9 пг/г ткани, для FGF – 364,7 пг/г ткани, для IGF-2 – 148 нг/г ткани и для sVEGF-R1 – величина 122,8 нг/г ткани (таблица 7). AUC посредством анализа VEGF-A составила $0,775 \pm 0,101$ ($p < 0,0064$), для FGF – $0,799 \pm 0,0934$ ($p < 0,0014$), для sVEGF-R1 – $0,838 \pm 0,081$ ($p < 0,0001$) и для IGF-2 – $820 \pm 0,0980$ ($p < 0,0011$), что свидетельствует о хорошей и очень хорошей диагностической ценности всех выбранных биомаркеров. Параметры, характеризующие высокую степень значимости у выше перечисленных биомаркеров (z -статистика и 95% Доверительный интервал) так же соответствовали высоким значениям (таблица 7).

Таблица 7 – Оценка диагностической информативности определения VEGF-A, VEGF-R1, FGF, IGF-2, и показатели площади под кривыми ROC-анализа при диагностике генерализованного рака почки в условно интактной ткани

| Биомаркер и критерий разграничения | ДЧ % | ДС % | Интервал ППК (AUC) | 95% Доверительный интервал | z - статистика | P (vs AUC=0.5) |
|------------------------------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----------------|----------------|
| VEGF-A $\leq 9107,9$ пг/г ткани | 84,6 | 71,43 | 0,775 \pm 0,101 | 0,574-0,912 | 2,729 | p<0,0064 |
| sVEGF-R1 $\leq 122,8$ нг/г ткани | 76,92 | 85,71 | 0,838 \pm 0,081 | 0,646-0,950 | 4,160 | p<0,0001 |
| FGF $\leq 364,7$ пг/г ткани | 72,73 | 85,71 | 0,799 \pm 0,093 | 0,591-0,931 | 3,200 | p<0,0014 |
| IGF-2 ≤ 148 нг/г ткани | 76,9 | 92,3 | 0,820 \pm 0,098 | 0,620-0,941 | 3,259 | p<0,0011 |

Примечание. ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность, интервал ППК (AUC) – показатель площади под ROC-кривой

В крови больных светлоклеточным раком почки при проведении ROC-анализа наиболее диагностически значимыми оказались VEGF-A, NGAL-липокалин, IGFBP-3. Если VEGF-A > 364,4 пг/мл, то принимается решение с диагностической чувствительностью 100%, специфичностью 88,9% в пользу генерализованного рака (p < 0,0001). Если NGAL-липокалин > 3,4 нг/мл, то также принимается решение в пользу генерализованного рака с диагностической чувствительностью 80% и специфичностью 80% (p < 0,0143). В случае если IGFBP-3 ≤ 3232 нг/мл с диагностической чувствительностью 80% и специфичностью 88,89% (p < 0,0001), то ставится диагноз генерализованный рак почки.

Таким образом, в результате проведенного ROC-анализа биомаркеров, определяемых в тканях почки и крови больных светлоклеточным раком почки, наиболее диагностически значимыми для определения прогрессирования заболевания оказались:

- 1.) в опухолевой ткани – VEGF-A, FGF, СТГ-релизинг;
- 2.) в ткани перифокальной зоны – VEGF-A;
- 3.) в условно интактной ткани почки – VEGF-A, VEGF-R1, FGF, IGF-2.
- 4.) в крови больных – VEGF-A, NGAL-липокалин, IGFBP-3.

ВЫВОДЫ

1. Характерной особенностью неангиогенеза светлоклеточного рака почки является то, что при локальном процессе содержание фактора

ангиогенеза VEGF-A в ткани опухоли статистически значимо ниже, чем в морфологически неизмененных тканях (в среднем на 30%), в отличие от генерализованного процесса, при котором содержание VEGF-A в опухоли статистически значимо выше, чем в морфологически неизмененных тканях почки (в среднем в 3,2 раза), $p < 0,05$.

2. Соотношение содержания VEGF-A в опухолевой ткани к содержанию VEGF-A в перифокальной зоне можно использовать в качестве дополнительного диагностического критерия для прогноза течения светлоклеточного рака почки.

3. Общей патофизиологической особенностью, характерной как для локального, так и для генерализованного рака почки независимо от пола больных, является сниженное содержание инсулиноподобных факторов роста и связывающих их белков в опухолевой ткани относительно значений в морфологически неизмененных тканях (в среднем: IGF-1 ~190 нг/г против ~1070 нг/г, IGF-2 ~12 нг/г против ~140 нг/г, IGFBP-1 ~1 нг/г против ~25 нг/г, IGFBP-2 ~30 нг/г против ~70 нг/г), и обратная зависимость для значений соматотропного гормона-рилизинга – повышенное содержание в опухолевой ткани по сравнению с морфологически неизмененными тканями (в среднем: СТГ-рилизинг ~175 нг/г против ~45 нг/г), $p < 0,05$.

4. Распределение белок-связывающего инсулиноподобного фактора роста 2-го типа (IGFBP-2) в тканях почки имеет половую специфику вне зависимости от степени распространенности светлоклеточного рака почки: как при локальном, так и при генерализованном процессе содержание IGFBP-2 статистически значимо выше в опухолевой и интактной ткани у мужчин (в среднем в 2,5 и 2,3 раза соответственно), а в ткани перифокальной зоны – у женщин (в среднем на 45%), $p < 0,05$.

5. Для генерализованных форм светлоклеточного рака почки характерна гиперэкспрессия циклина D1 (40–90%) и высокий уровень экспрессии CD44 (в 2 раза больше при сопоставлении с локальным раком), что свидетельствует об их информативности для прогнозирования прогрессии заболевания.

6. Патогенетической характеристикой инвазивных свойств первичного опухолевого очага при генерализованном светлоклеточном раке

почки является снижение экспрессии Е-кадгерина при одновременном нарастании экспрессии виментина.

7. Определены диагностически значимые биомаркеры прогрессии и их критические значения при светлоклеточном раке почки (для условно интактной ткани это значения VEGF-A \leq 9107,9 пг/г ткани, VEGF-R1 \leq 122,8 нг/г ткани, FGF \leq 364,7 пг/г ткани, IGF-2 \leq 148 нг/г ткани, для ткани перифокальной зоны VEGF-A \leq 5839,6 пг/г ткани и для ткани опухоли VEGF-A $>$ 9622,5 пг/г ткани, FGF \leq 435,1 пг/г ткани, СТГ-рилизинг – 158,6 нг/г ткани).

8. Биомаркеры VEGF-A, NGAL-липокалин и IGFBP-3, определяемые в сыворотке крови больных, при светлоклеточном раке почки можно с высокой диагностической точностью использовать для определения прогноза заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В качестве уточняющей диагностики распространённости опухолевого процесса при светлоклеточном раке почки рекомендуем дополнительно использовать определение в сыворотке крови комбинации следующих маркеров: VEGF-A, NGAL-липокалина и IGFBP-3.

2. С целью уточняющей дифференциальной диагностики прогрессирования и мониторинга светлоклеточного рака почки рекомендуем, в тканях почки, определять иммуноферментным методом экспрессию следующих маркеров: в условно интактной ткани VEGF-A, VEGF-R1, FGF, IGF-2; в ткани перифокальной зоны VEGF-A, VEGF-R1, IGF-2, FGF; в ткани опухоли – VEGF-A, VEGF-R1.

3. Для определения дальнейшего прогноза риска развития метастазов у больных с локальными стадиями светлоклеточного рака почки следует определять коэффициент соотношения экспрессии VEGF-A в опухолевой ткани к VEGF-A в перифокальной зоне.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Половые различия в содержании компонентов инсулиноподобного сигнального пути в тканях почки при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки / А.А. Бреус, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, А.Н. Шевченко, И.В. Нескубина, Е.А. Дженкова,**

Е.В. Шалашная, Е.В. Филатова, Д.А. Швырёв // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – №5. <http://www.science-education.ru/article/view?id=29168>

2. Гендерные различия компонентов инсулиноподобного сигнального пути в тканях почки при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, А.Н. Шевченко, А.А. Бреус, И.В. Нескубина, Ю.А. Погорелова, Е.В. Шалашная, Е.А. Дженкова // Медицинский вестник Юга России. – 2019. – Т.10 (1). – С. 35-41.

3. **Уровень некоторых факторов роста семейства VEGF при светлоклеточном раке почки / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, А.Н. Шевченко, А.А. Бреус, Ю.А. Погорелова, И.В. Нескубина // Известия высших учебных заведений Северо-Кавказский регион. – 2018. – №1. – С.124-129.**

4. **Патент № 2674677 Российская Федерация, МПК А61В, А61М. Способ прогнозирования течения заболевания у больных локальным почечно-клеточным раком почки [текст] / Кит О.И., Франциянц Е.М., Шевченко А.Н., Бреус А.А., Нескубина И.В., Шалашная Е.В., Ишонина О.Г.; заявитель и патентообладатель Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (RU). - №2018105822; заявл. 15.02.2018; опубл. 12.12.2018.**

5. Оценка прогностической значимости некоторых биологических факторов при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки / А.Н. Шевченко, А.А. Бреус, И.В. Нескубина, Е.А. Дженкова, Е.В. Филатова, Д.А. Швырёв // Южно-российский онкологический журнал. – 2020. – №2. – С.6-12.

6. Изменение показателей инсулиноподобного сигнального пути при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки / А.А. Бреус, Е.М. Франциянц, А.Н. Шевченко, Е.А. Дженкова, И.В. Нескубина, Е.В. Шалашная, Ю.А. Погорелова, Д.А. Швырёв // Материалы X Съезда онкологов России. – Нижний Новгород, 17-19 апреля 2019. – С. 20.

7. Особенности экспрессии факторов роста и их рецепторов в тканях почки больных с локальным и генерализованным светлоклеточным раком / А.А. Бреус, Е.М. Франциянц, А.Н. Шевченко, С.Н. Димитриади, Д.А. Швырёв, Ю.А. Погорелова, И.В. Нескубина, Е.В. Шалашная, Е.В. Филатова //

Материалы конгресса молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины». Сборник статей под редакцией Е.Л. Чойнзонова. – 2018. – С. 178-180.

8. **Особенности экспрессии иммуногистохимических маркеров при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки / Е.М. Франциянц, А.Н. Шевченко, Е.А. Дженкова, Н.С. Карнаухов, Т.Н. Гудцова, А.А. Бреус, Е.В. Филатова, Д.А. Швырёв // Известия и практика в медицине. – 2020. – Т.7, №1 С.16-24 <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-1-2>**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

| | |
|----------------|---|
| ИФА | – иммуноферментный анализ |
| ПКР | – почечно-клеточный рак |
| мПКР | – метастатический почечно-клеточный рак |
| DCIM | – модель, построенная на объединённой базе данных |
| ECOG PS | – общее состояние пациента по шкале, разработанной Восточной онкологической группой |
| MSKCC | – центр по лечению рака Слоун Кеттеринг |
| VEFG-D | – лимфогенный лиганд |
| sVEGFR | – растворимый рецептор |
| VEGF-A | – фактор роста эндотелия сосудов |
| EGF | – эпидермальный фактор роста |
| EGFR | – растворимый рецептор эпидермального фактора роста |
| FGF | – фактор роста фибробластов |
| IGF-1 | – инсулиноподобный фактор роста 1 типа |
| IGF-2 | – инсулиноподобный фактор роста 2 типа |
| IGFBP-1 | – белок связывающий инсулиноподобный фактор роста 1 типа |
| IGFBP-2 | – белок связывающий инсулиноподобный фактор роста 2 типа |
| IGFBP-3 | – белок связывающий инсулиноподобный фактор роста 3 типа |
| СТГ-релизинг | – соматотропный гормон-релизинг |
| NGAL-липокалин | – липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов |
| ЭМТ | – эпителиально-мезенхимальная трансформация |