

© С.Х.Аль-Шукри, М.Г.Рыбакова, А.Э.Лукьянов, Ю.А.Пономарева, 2006
УДК 616.61-006-092

С.Х. Аль-Шукри, М.Г. Рыбакова, А.Э. Лукьянов, Ю.А. Пономарева

ОНКОМАРКЕРЫ ПРИ ОПУХОЛЯХ ПОЧЕЧНОЙ ПАРЕНХИМЫ

S.Kh. Al-Shukri, M.G. Rybakova, A.E. Lukyanov, Yu.A. Ponomareva

ONCOMARKERS IN TUMORS OF RENAL PARENCHYMA

Кафедра урологии и кафедра патологической анатомии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербургский медико-технический институт, Россия

Ключевые слова: онкомаркеры, прогноз, выживаемость, почечноклеточный рак.

Key words: oncomarkers, prognosis, survival, renal cell tumor.

Проблема рака почки в настоящее время приобретает все большее значение в связи с ростом заболеваемости населения этой патологией. Так, на протяжении 90-х годов ежегодный темп прироста заболеваемости в США отмечался на уровне 2-3%, на Украине и в России – 6-10% [1]. Рак почки составляет 3% среди всех раковых заболеваний у взрослых [2]. Согласно эпидемиологическим данным наиболее часто встречается почечноклеточный рак, онкоцитомы и ангиомиолипома почки. Почечноклеточный рак встречается в 90–95% случаев всех опухолей почки у взрослых (с пиком заболеваемости на шестой декаде жизни), онкоцитомы – в 3-5%, ангиомиолипома – в 1-2% случаев [3]. Среди злокачественных новообразований мочеполовой системы рак почки занимает третье место, уступая по частоте встречаемости раку предстательной железы и мочевого пузыря [2].

В связи с развитием и внедрением в клиническую практику высокоэффективных и малоинвазивных методов обследования (ультразвуковое исследование, компьютерная и ядерно-магнитно-резонансная томографии), стало возможным выявлять рак почки на более ранних стадиях, что позволяет расширить показания к органосохраняющим операциям. Однако радикальная нефрэктомия остается основным методом лечения больных раком почки. По данным некоторых авторов [4–7], резекция почки является не менее радикальной операцией, чем нефрэктомия, при соблюдении ряда условий: стадия опухоли T1 (размер опухоли не более 4-5 см), отсутствие инвазии опухолевого узла в полостную систему, интактность сосудов почки от опухолевого узла. При любом методе хирургического лечения остается актуальным вопрос о дальнейшем течении заболевания, прогнозе и выживаемости пациента. До сих пор четко не опре-

делены показания для выбора метода лечения при раке почки (органосохраняющая или органосохраняющая операция). Главным принципом при лечении онкологических больных является сочетание максимального радикализма операций с максимальным сохранением качества жизни больного. По данным ряда наблюдений [4–8], результаты лечения больных с одинаковыми гистологическими типами опухолей на одинаковых стадиях заболевания могут существенно различаться. В одних случаях опухоль дольше не рецидивирует и клинически протекает более доброкачественно, чем в других.

В настоящее время основными критериями, определяющими прогноз заболевания, являются гистологический тип опухоли, степень дифференцировки, стадия заболевания, наличие или отсутствие регионарных или отдаленных метастазов [2]. Общепринятой является классификация TNM почечно-клеточного рака [2], в которой важное значение придается макроскопическому исследованию опухоли, ее отношению к собственной и жировой капсулам почки, к фасции Герота, а также изучению регионарных лимфоузлов, что определяет группировку по стадиям и выживаемость больных.

Для первой стадии характерно наличие опухоли размером менее 7 см в наибольшем измерении, ограниченной пределами почки, отсутствие регионарных и отдаленных метастазов. Выживаемость больных при первой стадии 60-90% [2]. При второй стадии опухоль превышает 7 см в наибольшем измерении, но ограничена пределами почки, отдаленные и регионарные метастазы не определяются. Выживаемость – 50-60% [2]. При третьей стадии имеется различное сочетание размеров опухоли с наличием отдаленных или регионарных метастазов (T1N1M0, T2N1M0, T3N0\N1M0), выживаемость – 20-40% [2]. Четвертая стадия характеризуется распространением опухоли за фасцию Герота, нали-

чем метастазов более, чем в одном регионарном лимфоузле, либо при любых размерах опухоли наличием отдаленных метастазов. Выживаемость больных при 4-й стадии не превышает 10% [2].

К сожалению, не всегда возможно оценить прогноз заболевания, опираясь на вышеперечисленные факторы. Большие трудности возникают и при выборе метода лечения, особенно при небольших (до 4 см) размерах опухоли [8].

Существенным является еще и то, что для выбора хирургической тактики необходимо оценивать опухоль с позиции степени ее злокачественности и возможного более агрессивного роста.

В настоящее время учеными всего мира ведется работа по определению маркеров прогрессии при раке почки. Эта работа основана на изучении процесса опухолеобразования и процесса метастазирования.

В соответствии с морфологической характеристикой рак почки представлен 5 основными гистологическими типами: светлоклеточный (конвекционный), папиллярный (хромофильный), хромофобный почечно-клеточный рак, рак собирательных протоков и неклассифицируемый почечно-клеточный рак. Эта современная Международная гистологическая классификация почечно-клеточных опухолей [9], основывается как на традиционных характеристиках – представлении о гистогенезе и цитоморфологических особенностях опухоли, так и новых критериях оценки опухолей (цитогенетический и молекулярно-генетический параметры).

Гистологические особенности основных типов опухолей соответствуют следующим изменениям, выявляемым в ткани почки:

Светлоклеточный рак – наиболее распространенная форма рака почки (70 – 75%), происходящая из канальцевого эпителия. Генетически светлоклеточный рак характеризуется прежде всего высокой частотой делеций и транслокаций короткого плеча хромосомы 3, в особенности 3p12-14, 3p14.2-3, 3p12-21, и 3p25-26 локусов [10].

Папиллярный почечно-клеточный рак – другая наиболее распространенная форма рака из канальцевого эпителия, составляющая 10-15% всех опухолей. Ранее его называли хромофильным почечно-клеточным раком, или тубулопапиллярным раком. Генетически для папиллярного почечно-клеточного рака весьма типичны трисомии или тетрасомии хромосом 7 и 17, а также трисомии других хромосом: +12, +16, +20 и потеря хромосомы Y в 8% случаев [10].

На хромофобный рак приходится около 5% рака почки. Генетические изменения отличаются моносомией многих хромосом (1, 2, 6, 10) или делециями отдельных областей в них [10].

Рак собирательных протоков составляет менее 1% всех почечно-клеточных опухолей. Гистологически опухоль построена из протокоподобных структур, выстланных атипичным эпителием. Раку собирательных протоков присущи делеции 8p и 13q (в более половине случаев), а также Y и транслокация локусов 17 хромосомы [10].

Неклассифицируемый рак наблюдается в 3-5% случаев. В эту категорию следует относить случаи почечно-клеточного рака, который не может быть с уверенностью отнесен ни к одному из вышеперечисленных вариантов, в том числе саркомоподобный рак с отсутствием отчетливых эпителиальных элементов, слизееобразующие опухоли, а также случаи с недифференцируемыми клеточными формами [10].

Для обнаружения и идентификации маркеров прогрессии опухоли необходимо представлять процессы, происходящие в опухолевой клетке и приводящие к ее росту, инвазии в окружающие ткани, способности проникать в сосуды и метастазировать.

Для развития злокачественной опухоли, по мнению ряда авторов [11,12], опухолевая клетка должна обладать набором из нескольких необходимых и достаточных фенотипических признаков:

- самообеспечение митогенными стимулами,
- нечувствительность к антимитогенным стимулам,
- способность избегать апоптоза,
- способность к индукции ангиогенеза,
- неограниченный репликативный потенциал,
- способность к тканевой инвазии,
- способность к метастазированию.

Инвазия опухоли обеспечивается также определенными изменениями в опухолевых клетках:

- нарушением взаимодействия клеток со своими соседями и внеклеточным матриксом, в частности потеря ими зависимости от субстрата и контактного торможения размножения,
- повышенной локомоторной активностью, отвечающей за инвазию в окружающие ткани,
- способностью неопластических клеток стимулировать прорастание сосудов (неоангиогенез) в ткани опухоли для обеспечения ее питания.

Наиболее опасным проявлением прогрессирующего неопластического образования является процесс метастазирования – образования вторичных очагов опухолевого роста. Этот процесс является основной причиной смерти онкологических больных. Чтобы приобрести способность к метастазированию клетка также должна обрести ряд свойств: умение проникать в глубину окружающих тканей, в том числе в кровь и лимфатические сосуды, а также способность выживать после попадания в сосуды, а затем пенетрировать и размножаться в несвой-

ственных для данного типа клеток микроокружения, давая новый очаг.

Таким образом, способность к метастазированию складывается из комплекса признаков, наиболее существенные из которых – приобретение локомоторного фенотипа и повышение протеолитической активности, способность стимулировать ангиогенез и создавать тем самым пути эвакуации опухолевых клеток из первичного очага, подавлять апоптоз и приобретать независимость от субстрата. Запуск неопластического процесса осуществляется при участии онкогенов или генов-супрессоров (под ними понимают гены, инактивация которых ведет к возникновению и/или прогрессии новообразования).

Анализируя полученные данные о процессах онкогенеза можно выделить следующие группы маркеров прогрессии рака почки:

- маркеры изменения ядра клетки,
- маркеры стромальных изменений в опухолевой ткани,
- маркеры регуляции апоптоза,
- факторы ангиогенеза,
- молекулы клеточных мембран,
- факторы роста,
- маркеры пролиферативной активности.

Для оценки прогрессирования опухолевого процесса используются также хромосомные инверсии и гистохимическое определение уровней различных ферментов в тканях опухоли. Эти факторы могут иметь диагностическую и прогностическую ценность (как правило, имеется их прямая или косвенная связь с классическими прогностическими признаками).

Маркеры изменения ядра клетки

Наряду с TNM-стадиями важнейшим прогностическим фактором опухолевой прогрессии является степень ядерной градации по Фурману, разработанная в 1982 году [12].

Для первой степени характерны округлые ядра, около 10 мкм в диаметре, правильной формы, ядрышки не определяются.

Вторая степень характеризуется неправильными контурами ядер, диаметр их около 15 мкм, определяются ядрышки (при увеличении 400).

Третья степень: умеренная или выраженная неравномерность контуров ядер, их диаметр около 20 мкм, определяются крупные ядрышки (при увеличении 100).

Четвертая степень: ядра примерно такие же, как при 3-й степени, но часто мультилобулярные, уродливые, с крупными зернами или глыбками хроматина.

Следует отметить, что данная градация особенно рекомендована для светлоклеточного и папиллярного почечно-клеточного рака, однако она не применима для хромофобного рака почки, так как при этом типе опухоли определяется высокий полиморфизм ядер. Установлено, что пятилетняя выживаемость при 1–2-й степенях достигает 80%, снижаясь до 24% и даже 8% при 3–4-й степени. Helppar (1988) в дополнение к этой классификации предложил подсчет митотических фигур, отметив, что для 1-2 степени митозы в целом не характерны.

Маркеры стромальных изменений опухолевой ткани

Наряду с ядерной морфометрией прогностическое значение имеет и лейкоцитарная инфильтрация стромы опухоли. В. Hemmerlein и соавт. [13] по результатам проведенного исследования установили, что макрофагальная инфильтрация ткани высокодифференцированной опухоли имеет меньшую плотность, чем низкодифференцированная опухоль. При этом в низкодифференцированных раках отмечается более высокий уровень некрозов и высокая плотность активных макрофагов (в данном исследовании макрофаги были разделены на 2 типа: активные и менее активные) [14,15].

Маркеры регуляции апоптоза

Важнейшей точкой приложения деятельности онкогенов и опухолевых супрессоров является апоптоз (программированная гибель клетки). В связи с этим наибольшее количество публикаций посвящено изучению прогностических значений генов, участвующих в регуляции этого процесса. Одним из наиболее изученных генов супрессоров является ген p53 [16–22]. Это белок, регулирующий клеточный цикл, отвечающий за репарацию ДНК, за поддержание целостности генома. Активация гена p53 дает мощный сигнал к индукции апоптоза. По данным V. Zolota и соавт. [16] ген p53 (его мутации) обнаруживается в 35,9% опухолей почки. Чаще он встречается в опухолях с предпочтительно унифокальным ростом. Группа других авторов [19] установила наличие мутаций гена p53 в 23% случаев почечно-клеточного рака, преимущественно в экзонах 5-7, причем отмечались высокие степени ядерной градации. При изучении p53- позитивных случаев в зависимости от стадии были получены следующие данные: при pT2 стадии p53-позитивные случаи были невысоки (4%), однако при исследовании pT3 стадии позитивная экспрессия p53 отмечается уже в 16% случаев и связана с высокой пролиферативной активностью и неблагоприятным прогнозом [19–21].

В зависимости от гистологического типа опухоли получены следующие результаты: в 79% случаев отмечено преобладание мутаций гена p53 при саркомоподобном раке и только в 14% – при других вариантах почечно-клеточного рака [22]. Таким образом, исследование мутаций гена p53 при почечно-клеточном раке позволяют говорить о существенном значении роли p53 лишь на сравнительно позднем этапе опухолевой прогрессии, что, однако, не снижает прогностической ценности иммуногистохимического исследования p53 при почечно-клеточном раке почки.

Группа белков, к которой относятся BAX, bcl-2, bcl-x, кодирует образования белка, локализуемого на мембране митохондрий и отвечающего за открытие кальциевых каналов и выброс апоптогенных молекул. Баланс этих генов изучался при нефробластоме. М.А. Ghanem и соавт. [23] установили, что bcl-2 наблюдался в 53% случаев, BAX – в 41%, а bcl-x – в 38% опухолей. Увеличение значения bcl-2 наблюдалось параллельно с увеличением патологических стадий, снижение уровня BAX свидетельствовало о более злокачественном типе опухоли. В обратной зависимости от стадии опухоли определялся уровень bcl-x (он снижался с увеличением стадии). Другое исследование, проведенное F. Paraf и соавт. [24], было посвящено изучению уровня bcl-2 в различных гистологических типах опухоли почки. Было установлено, что наибольшее его значение определяется при тубулопапиллярной карциноме. По данным D. Chandler и соавт. [25], уровень bcl-2 обратно пропорционален количеству апоптозов в клетках, чем обеспечивает нарушение контроля программированной гибели клетки и прогрессированию опухоли.

В нормальных тканях клетки четко регулируют свой клеточный цикл, а характерным свойством опухолевой клетки является склонность к нерегулируемой пролиферации. Большинство известных протоонкогенов и опухолевых супрессоров регулирует активность циклин-зависимых киназ, отвечающих за вход клетки в S-фазу клеточного цикла. Ген PTEN/MMAC 1 является стимулятором апоптоза, ингибируя вход клетки в S-фазу клеточного цикла. Инактивация (потеря гетерозиготности) данного гена может быть связана с прогрессией опухоли. По данным M. Velickovic и соавт. [26], наибольшее значение мутированного гена было обнаружено при хромофобном типе опухоли – 87,5%, при светлоклеточном типе – 37,5%, при тубулопапиллярном – 29,6%. Группа других авторов [27] исследовала значение PTEN при почечно-клеточном раке и онкоцитоме. Для сравнения уровень этого гена был определен и в нормальной почечной ткани. В нормальной ткани почки отмечен высокий уровень PTEN. В образцах свет-

локлеточного рака уровень данного гена был снижен до 10% по сравнению с нормальной тканью. При онкоцитоме эти показатели были еще ниже. Таким образом, снижение уровня PTEN может служить маркером светлоклеточного рака почки.

К другим регуляторам клеточного цикла относятся гены p21, p27, p105 и pRb. Изучение уровня этих генов проводилось главным образом при опухолях Вильмса. Было установлено, что уровень p27 и pRb значительно повышен при опухоли Вильмса [28]. Эти гены могут быть факторами-предвестниками этого вида опухоли. Н. Yokogi [29] измерял уровень содержания гена p105 у пациентов с преимущественно светлоклеточным типом рака почки. Пятилетняя выживаемость пациентов при высоком уровне гена p105 была хуже, чем при низком содержании этого гена.

Протоонкоген Muc1 – раковоассоциированный муцин, содержащийся на поверхности мембран раковых клеток. По данным иммуногистохимического исследования, проведенного X. Leroy и соавт. [30] при pT1 стадии рака почки, была установлена прямо пропорциональная зависимость между количеством меченных Muc-1 клеток и риском развития метастазов. Предметом исследования S. Kraus и соавт. [31] было сравнительное определение уровня муцина-1 в нормальной и пораженной опухолью тканях почки. По данным этих авторов в раковых клетках муцина-1 увеличен, и это увеличение коррелирует с размерами опухоли. Наибольшее значение муцина было получено в клетках эпителия дистальных канальцев, что может свидетельствовать о происхождении рака почки и быть маркером почечно-клеточного рака [32].

Важным фактором агрессивности опухоли, ее метастатического потенциала и негативного прогноза является протоонкоген c-erb-2 (HER-2/neu), поддерживающий пролиферативную активность опухолевых клеток. Этот белок локализуется в 17 хромосоме и кодирует трансмембранную тироксинкиназу рецептора ростового фактора. Он также способствует толерантности опухолевых клеток к апоптозу. По мнению M. Rotter и соавт. [33], гиперэкспрессия c-erb-2 отмечается в более чем 30% случаев почечно-клеточного рака. При этом уровень этого маркера различен при различных гистологических типах опухоли. При светлоклеточном типе опухоли уровень c-erb-2 был низкий ($p < 0,001$). Хромофильный, хромофобный и тубулопапиллярный типы опухоли не показывали существенных различий с нормальной почечной тканью. Была отмечена обратно пропорциональная зависимость между уровнем гена со степенью дифференцировки опухоли [34].

При изучении CD95 системы, которая рассматривается как регулятор апоптоза, U.Ramp и соавт. [35] установили, что от высокодифференцированного к низкодифференцированному раку уровень CD95 снижается.

Факторы ангиогенеза

Известно, что для развития опухоли важным является процесс ангиогенеза. Внимание ряда исследователей [36,37,38,39,40,41,42,43] было привлечено к факторам ангиогенеза:

- 1) основной фибробластический фактор роста (bFGF),
- 2) гепатоцит-фактор роста,
- 3) эндотелиальный фактор роста (VEGF),
- 4) VHL-ген.

C.Dosquet и соавт. [37] изучили значения фибробластического фактора роста в сыворотке больных раком почки. У пациентов с опухолевым тромбом в почечную или нижнюю полую вены отмечено более высокое сывороточное значение этого показателя ($p=0,007$) по сравнению с теми, у которых были неинвазивные опухоли. Повышение уровня фибробластического фактора роста выше, чем 3.0 pg/ml , свидетельствовало о более плохом прогнозе для пациента. Другое исследование [38] было посвящено измерению факторов ангиогенеза у пациентов с почечно-клеточным раком и у группы здоровых людей. Уровни сывороточного значения bFGF, VEGF и гепатоцит-фактора роста были значительно повышены по сравнению со здоровыми людьми [39]. Также было отмечено, что уровень bFGF и VEGF выше при распространенном раке, чем при локализованном [40–42].

VHL-ген – это белок, активируемый при гипоксии и подавляющий экспрессию фактора роста эндотелия сосудов и других генов, активируемый при гипоксии. Он встречается при синдроме Хиппен-Линдау. Мутации этого гена рассматриваются P.Schraml и соавт. [43] как критические для инициирования светлоклеточного рака. В 113 случаях светлоклеточного рака изучалась связь мутаций VHL гена с быстротой роста опухоли, ангиогенезом и клиническим прогнозом. 34% мутаций были связаны с худшим прогнозом заболевания. Корреляции мутаций этого гена с быстротой роста, микрососудистой плотностью, сортом опухоли не были установлены.

Молекулы клеточных мембран

Молекулы клеточных мембран, которые обеспечивают регуляцию взаимоотношений опухолевых клеток между собой и между окружающими тканями, заслуживают внимания как прогностические факторы. К наиболее изученным относятся CD40,

CD44, E-кадхерин, галетины 1 и 3, E-селектин [44–52]. По мнению A.Ottiano и соавт., CD40 – молекула клеточной мембраны, может индуцировать апоптоз и возбуждать иммунный ответ [44]. Это может быть использовано в дальнейшем для создания противоопухолевой терапии. Роль этого фактора в развитии опухоли находится на стадии изучения. CD44 – это протеогликан, входящий в состав клеточных мембран [45,46,48]. Он относится к адгезивным молекулам, обеспечивающим контакт раковых клеток между собой и между межклеточным матриксом. Существует ряд изомеров: CD44v5 [45], CD44v8-10 [46–48], CD44H [49–51], CD44S [49,52]. Повышение уровня этих маркеров коррелирует со стадией опухоли и является диагностически неблагоприятным фактором, свидетельствующим о высоком риске метастазирования и более плохом прогнозе. E-кадхерин регулирует активность бета-актинина и также отвечает за межклеточное взаимодействие [49]. Те же функции выполняет и E-селектин. Установлено, что снижение значений этих показателей говорит о более высоком риске метастазирования [49]. C.Francois и соавт. установили, что галетины 1 и 3 относятся к гликопротеинам, снижение их концентрации связано с неблагоприятным прогнозом для пациентов с почечно-клеточным раком [53].

Факторы роста

Существуют системы регуляции роста опухолевой ткани. Эти системы обнаружены во всех опухолях почки независимо от гистологического типа. В настоящее время наиболее изученными факторами этих систем являются альфа-фактор роста и преобразования (A-TGF) и эпидермальный фактор роста (EGF-R) [54]. Повышение этих факторов указывает на то, что эти системы приобретают защиту от управления и контроля опухолевым ростом. Уровень повышения маркеров прямо пропорционален стадии опухоли и является показателем агрессивного роста опухоли и, соответственно, неблагоприятным прогностическим фактором [55].

Маркеры пролиферативной активности

Высокие уровни экспрессии маркеров пролиферативной активности (AgNOR-протеинов, PCNA, Ki-67) негативно влияют на выживаемость больных почечно-клеточным раком. Антиген Ki-67 участвует практически во всех фазах митотического цикла и отражает степень пролиферации. Уровни этого антигена, по мнению N.Rioux-Leclereg и соавт. [20], напрямую коррелируют со степенью ядерной градации по Фурману, а также имеют прямую связь со стадией опухоли, ее размерами и наличием

ем метастазов. Индекс Ki-67, составляющий 20%, прогнозирует выживаемость всех пациентов и коррелирует с плохим прогнозом и высоким риском метастазирования ($p < 0,001$) [56].

Уровень маркера PCNA выше 5% снижает пяти- и десятилетнюю выживаемость больных почечно-клеточным раком [57].

Хромосомные мутации

Прогрессия злокачественной опухоли является результатом накопления многократных генетических отклонений. Изучению этой проблемы посвящен ряд работ, в которых изучены различные гены и хромосомы.

Хромосома 14q LOH была изучена в 130 образцах почечно-клеточного рака [58]. При этом опухоли классифицировались как 14q LOH позитивные и не содержащие данную хромосому. Наличие хромосомы 14q LOH сопоставляется со смертностью, гистологическим типом и размером опухоли. В 35,4% случаев были выявлены 14q LOH-позитивные опухоли. Это были наиболее агрессивные типы опухоли с быстрым ростом и склонностью к метастазированию. Таким образом, наличие данной хромосомы в клетках почечного рака связано с агрессивностью опухоли, но считать ее независимым маркером выживания нельзя, а обнаружение ее может быть полезным как маркер скрытого метастатического потенциала.

При метастатическом раке почки были получены данные о множественных мутациях 9 и 17 хромосом, что позволило сделать вывод, что числовые отклонения 17-й хромосомы и мутации 9-й могут быть маркерами хромосомальной неустойчивости в почечно-клеточном раке и склонностью его к метастазированию [18].

Ряд исследований указывает на то, что генетическая неустойчивость, обнаруживаемая при почечно-клеточном раке, связана с развитием болезни. Потеря гетерозиготности (LOH) в 3p.21.1-p14.2 и 17q21 (в этих хромосомах локализуются гены-подавители опухоли) затрагивает именно те локусы, на которых локализуются предполагаемые гены-подавители опухоли [59,60]. Этот процесс обеспечивает туморогенез и прогрессию опухоли. Установлено, что в 3p14.2 хромосоме содержится FHIT ген – ген подавитель опухоли. Его мутация также приводит к прогрессии опухоли [61,62].

T.J.Polascik и соавт. [63] считают, что большую ценность в диагностике и прогнозировании опухолевого процесса имеет молекулярный генетический анализ. Почечные опухоли имеют гетерогенную морфологию, которая может изменяться в течение прогрессии опухоли. С помощью молекулярных ци-

тогенетических методов стало возможным объединять почечные опухоли в генетически четкие объекты. В папиллярных почечных опухолях клетки характеризуются потерей Y хромосомы и трисомией хромосом 3q, 7, 8, 12, 16, 17 и 20 [63]. Хромофобная почечно-клеточная карцинома отмечена определенной комбинацией потери хромосом 1, 2, 6, 10, 13, 17 и 21 и перестановкой митохондриального ДНК. При онкоцитоме определяются минимальные кариотипические изменения или перемещения 11q13, или потеря Y хромосомы или хромосомы 1. По некоторым данным, молекулярные генетические маркеры могут использоваться не только для диагностирования почечно-клеточных опухолей, но и для предсказания прогноза подтипов опухоли. Трисомия хромосом 7 и 17 и потеря Y хромосомы отмечает папиллярные почечно-клеточные аденомы, дополнительная же трисомия хромосом 3q, 8, 12, 16 и 20 связана с преобразованием аденомы в папиллярную почечно-клеточную карциному. Клиническое поведение непапиллярных типов опухоли также сильно коррелирует со вторичными изменениями кариотипа (например, потеря хромосом 6q, 8p, 9 и 14q) [63].

Во время деления клеток существует процесс защиты концов хромосом от дезорганизации и слияния, осуществляемый ферментом теломеразой. Теломеразная активность обнаруживается во многих опухолевых клетках человека, в том числе и при опухоли почки. По данным проведенного T.Fujioka и соавт. [64] исследования, в 60% случаев почечно-клеточного рака была зафиксирована теломеразная активность. Исследователи предположили, что теломеразная активность может быть связана с прогрессией почечно-клеточного рака [65].

Ферменты

Изучены некоторые ферменты, обнаруживаемые при опухолях почки.

Металлотионин (MT) определялся в сыворотке крови больных раком почки. E.Tuzel и соавт. [66] в 55,7% случаев обнаружили MT. Выживаемость пациентов с обнаруженным MT была значительно ниже. Различия в определяемых уровнях MT коррелировали с гистологическим типом и степенью дифференцировки опухоли. Саркома показывала значительно более высокие MT значения, чем светлоклеточный папиллярный или хромофобный раки ($p = 0,02, 0,001, 0,01$ и $0,01$, соответственно) [67]. Поэтому наличие MT можно рассматривать как полезный маркер менее дифференцированной и более агрессивной опухоли.

CANP – кальций- активизированная нейтральная протеаза определяется во многих опухолевых

тканях, в том числе и при опухолях почки. C. Braun et al. [68] провели анализ 30 случаев опухолей почки и получили различные уровни CANP в зависимости от гистологического типа и наличия метастазов. При N1 и N2 уровень протеазы был значительно выше, чем без метастазов в регионарные лимфоузлы.

Агапурин 1 и углеродистая ангидраза 4 рассматриваются как маркеры дифференцирования проксимальных канальцев, из которых возникает светлоклеточная карцинома. При изучении уровня этих маркеров у пациентов с первичным светлоклеточным раком было установлено, что низкий уровень агапурина был связан с низкой дифференцировкой клеток и, соответственно, с худшим прогнозом. Снижение уровня агапурина и ангидразы было отмечено также у пациентов с имеющимися метастазами, по сравнению с группой больных без метастаз. Определение уровня данных маркеров может быть полезным прогностическим фактором у больных после нефрэктомии [69].

Определение уровня гамма-инолазы и альдолазы в сыворотке больных раком почки помогает в диагностировании и определении прогноза заболевания. При раке почки уровни этих ферментов были повышены (40% и 34% соответственно). При этом степень повышения коррелировала со стадией опухоли (37% в первой стадии, 59% во второй стадии, 72% – в третьей, 74% – в четвертой). При повышении уровня обоих маркеров пациенты имели худший прогноз, чем при повышении уровня только одного. Поэтому одновременное измерение этих маркеров обеспечивает более полную информацию о прогнозе заболевания [70].

Y. Kitamura и соавт. [71] исследовали экскрецию с мочой глицин-пролин-дипептидаминопептидазы (GP-DAP) N-ацетил-бетил-глюкозаминидазы. У 32 пациентов с почечно-клеточным раком экскреция этих ферментов была значительно выше по сравнению со здоровыми людьми.

Y. Naikagawa и соавт. [72] удалось выделить из ткани почечно-клеточного рака, удаленного хирургическим путем гликопротеин, содержащий оксалат кальция – нефрокалкин. Нефрокалкин пытались синтезировать в культуре почечно-клеточного рака *in vitro*, однако синтез этого гликопротеина оказался невозможным, из чего следует, что нефрокалкин производится почечно-клеточной тканью *in vivo* и может быть маркером рака почки.

При нефробластоме измеряли уровень плазматического полиамина [73]. В 92,4% случаев получили положительный результат. После хирургического лечения (нефрэктомии) уровень полиамина снизился в 58% случаев. Рост концентрации полиамина в плаз-

ме у пациентов, перенесших нефрэктомиию, как правило, был связан с метастазированием (41,8% случаев). Из этого следует, что полиамин-контроль можно рекомендовать для наблюдения и прогнозирования течения нефробластомы у детей.

Таким образом, в настоящий момент существует множество данных о различных генетических, морфологических, иммунологических и молекулярных прогностических факторах при опухолях почки. Некоторые из них могут использоваться как диагностические и прогностические маркеры. Однако ни один из авторов не берет на себя смелость заявить однозначно об универсальности изученного им фактора. Использовать эти молекулярные, иммунологические, генетические и морфологические показатели необходимо в совокупности с классическими факторами прогноза выживаемости и риске метастазирования при раке почки. Остаются большие перспективы в изучении комбинаций данных признаков и оценке их прогностического значения. Несмотря на новизну и отсутствие большого опыта в использовании опухолевых маркеров, эта проблема очень актуальна в связи с развитием органосберегающей хирургии для выявления дополнительных критериев в выборе метода лечения больных с локализованными и небольшими опухолями почки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bostwick DC, Murphy GP. Diagnosis and prognosis of renal cell carcinoma: highlights from an international consensus workgroup. *Semin Urol Oncol* 1998; 16: 46-52
2. Аль-Шукри СХ, Ткачук ВН. *Опухоли мочеполовых органов*. СПб.: Питер, 2000; 60-78
3. Возианов АФ, Романенко АМ, Сайдакова НА и др. Экологический патоморфоз почечноклеточного рака в загрязненных радионуклидами регионах Украины. *Журн АМН Украины* 2002; (1): 120-131
4. Brkovic D, Riedash G, Staehler G. *Urologie A* 1997; 36 (2): 103-108
5. Hafez KS, Novick AC, Campbell SC. *Ibid* 1997; 157 (4): 2067-2070
6. Klein EA, Novick AC. *Comprehensive textbook of genitourinary oncology*. Baltimore, 1996; 207-217
7. Lerner SE, Hawkings CA, Blute ML et al. Partial nephrectomy. *J Urol* 1996; 155 (2): 61-66
8. Степанов ВН, Колпаков ИС, Серегин АВ. Материалы 3-й Всероссийской научн. конф. «Консервативная хирургия при опухоли почки» с участием стран СНГ. М., 1999; 151-158
9. Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BH. The Heidelberg classification of renal cell tumors. *J Pathol* 1999; 183: 131-135
10. Kovacs G. Molecular genetics and diagnosis of renal cell tumors. *Urologie A* 1999; 38: 433-441
11. Delahunt B. Histopathologic prognostic indicators for renal cell carcinoma. *Semin Diagn Pathol* 1998; 15: 68-76
12. Fuhrman SA, Lasky LS, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1982; 6: 655-663
13. Hemmerlein B, Markus A, Wehner M et al. Expression of acute and late-stage inflammatory antigens, c-fms, CSF-1, and human monocytic serine esterase 1, in tumor-associated

- macrophages of renal cell carcinomas. *Cancer Immunol Immunother* 2000; 49 (9): 485-492
14. Kowalczyk D, Skorupski W, Kwias Z, Nowak J. Flow cytometric analysis of tumour-infiltrating lymphocytes in patients with renal cell carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2001; 53 (5): 543-548
 15. Shabtai M, Ye H, Frischer Z et al. Increased expression of activation markers in renal cell carcinoma infiltrating lymphocytes. *J Urol* 2002; 168 (5): 2216-2219
 16. Zolota V, Tsamandas AC, Melachrinou M et al. Expression of CD44 protein in renal cell carcinomas: association with p53 expression. *Urol Oncol* 2002; 7(1): 13-17
 17. Huang J, Soffer SZ, Kim ES et al. p53 accumulation in favorable-histology Wilms tumor is associated with angiogenesis and clinically aggressive disease. *J Pediatr Surg* 2002; 37 (3): 523-527
 18. Yoshioka K, Nakamura S. Chromosome 9 and 17 aberrations and p53 gene deletion detected by fluorescence in situ hybridization in renal-cell carcinoma. *Mol Urol* 2001; 5 (1): 11-17
 19. Hashimoto H, Sue Y, Saga Y et al. Roles of p53 and MDM2 in tumor proliferation and determination of the prognosis of transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *Int J Urol* 2000; 7 (12): 457-463
 20. Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard J et al. Value of immunohistochemical Ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma. *Urology* 2000; 55 (4): 501-505
 21. Haitel A, Wiener HG, Blaschitz U et al. Biologic behavior and p53 overexpression in multifocal renal cell carcinoma of clear cell type: an immunohistochemical study correlating grading, staging, and proliferation markers. *Cancer* 1999; 85 (4): 432-438
 22. Chemeris G, Loktinov A, Rempel A et al. Elevated content of p53 protein in the absence of p53 gene mutations as a possible prognostic marker for human renal cell tumors. *Virchows Arch* 1995; 426 (6): 563-569
 23. Ghanem MA, Van der Kwast TH, Den Hollander JC et al. The prognostic significance of apoptosis-associated proteins BCL-2, BAX and BCL-X in clinical nephroblastoma. *J Cancer* 2001; 85 (10): 1557-1563
 24. Paraf F, Gogusev J, Chretien Y, Droz D. Expression of bcl-2 oncoprotein in renal cell tumours. *J Pathol* 1995; 177 (3): 247-252
 25. Chandler D, el-Naggat AK, Brisbay S et al. Apoptosis and expression of the bcl-2 proto-oncogene in the fetal and adult human kidney: evidence for the contribution of bcl-2 expression to renal carcinogenesis. *Hum Pathol* 1994; 25 (8): 789-796
 26. Velickovic M, Delahunt B, McIver B, Grebe SK. Intragenic PTEN/MMAC1 loss of heterozygosity in conventional (clear-cell) renal cell carcinoma is associated with poor patient prognosis. *Mod Pathol* 2000; 15 (5): 479-485
 27. Brenner W, Farber G, Herget T et al. Loss of tumor suppressor protein PTEN during renal carcinogenesis. *Int J Cancer* 2002 May; 99 (1): 53-57
 28. Haitel A, Wiener HG, Neudert B et al. Expression of the cell cycle proteins p21, p27, and pRb in clear cell renal cell carcinoma and their prognostic significance. *Urology* 2001; 58 (3): 477-481
 29. Yokogi H. Flow cytometric quantitation of the proliferation-associated nuclear antigen p105 and DNA content in patients with renal cell carcinoma. *Cancer* 1996; 78 (4): 819-826
 30. Leroy X, Zerimech F, Zini L et al. MUC1 expression is correlated with nuclear grade and tumor progression in pT1 renal clear cell carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2002; 118 (1): 47-51
 31. Kraus S, Abel PD, Nachtmann C et al. MUC1 mucin and trefoil factor 1 protein expression in renal cell carcinoma: correlation with prognosis. *Hum Pathol* 2002; 33 (1): 60-67
 32. Fujita K, Denda K, Yamamoto M et al. Expression of MUC1 mucins inversely correlated with post-surgical survival of renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer* 1999; 80 (1-2): 301-308
 33. Rotter M, Block T, Busch R et al. Expression of HER-2/neu in renal-cell carcinoma. Correlation with histologic subtypes and differentiation. *J Cancer* 1992; 52 (2): 213-217
 34. Fontana LO, Garcia Garcia F, Arcas Martinez Salas I et al. The expression of p53 and c-erb-2 in transitional cell carcinoma of the kidney pelvis and ureter and its relation to tumor progression and survival. *Arch Esp Urol* 2002; 55(7): 792-796
 35. Ramp U, Bretschneider U, Ebert T et al. Prognostic implications of CD95 receptor expression in clear cell renal carcinomas. *Hum Pathol* 2003; 34 (2): 174-179
 36. Rasmuson T, Grankvist K, Jacobsen J, Ljungberg B. Impact of serum basic fibroblast growth factor on prognosis in human renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2001; 37 (17): 2199-2203
 37. Dosquet C, Coudert MC, Lepage E et al. Are angiogenic factors, cytokines, and soluble adhesion molecules prognostic factors in patients with renal cell carcinoma? *Clin Cancer Res* 1997; 3 (12 Pt 1): 2451-2458
 38. Inoue K, Kamada M, Slaton JW et al. The prognostic value of angiogenesis and metastasis-related genes for progression of transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *Clin Cancer Res* 2002; 8 (6): 1863-1870
 39. Alami J, Williams BR, Yeger H. Expression and localization of HGF and met in Wilms' tumours. *J Pathol* 2002; 196 (1): 76-84
 40. Stumm G, Eberwein S, Rostock-Wolf S et al. Concomitant overexpression of the EGFR and erbB-2 genes in renal cell carcinoma (RCC) is correlated with dedifferentiation and metastasis. *Int J Cancer* 1996; 69 (1): 17-22
 41. Ghanem MA, van Steenbrugge GJ, Sudaryo MK et al. Expression and prognostic relevance of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (FLT-1) in nephroblastoma. *J Clin Pathol* 2003; 56 (2): 107-113
 42. Edgren M, Lennernas B, Larsson A, Kalkner K. Angiogenic factors: vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (b-FGF) are not necessarily elevated in patients with advanced renal cell carcinoma. *Anticancer Res* 2001; 21(2B): 1423-1429
 43. Schraml P, Struckmann K, Hatz F et al. VHL mutations and their correlation with tumour cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol* 2002; 196 (2): 186-193
 44. Ottaiano A, Pisano C, De Chiara A et al. CD40 activation as potential tool in malignant neoplasms. *Tumor* 2002; 88 (5): 361-366
 45. Ghanem M.A., Van Der Kwast TN, Sudaryo MK. Expression and prognostic value of CD44 isoforms in nephroblastoma (Wilms tumor). *J Urol* 2002; 168 (2): 681-686
 46. Miyake H, Eto H, Arakawa S et al. Over expression of CD44V8-10 in urinary exfoliated cells as an independent prognostic predictor in patients with urothelial cancer. *J Urol* 2002; 167 (3): 1282-1287
 47. Rioux-Leclercq N, Epstein JI, Bansard JY et al. Clinical significance of cell proliferation, microvessel density, and CD44 adhesion molecule expression in renal cell carcinoma. *Hum Pathol* 2001; 32 (11): 1209-1215
 48. Li N, Tsuji M, Kanda K et al. Analysis of CD44 isoform v10 expression and its prognostic value in renal cell carcinoma. *BJU Int* 2000; 85 (4): 514-518
 49. Fischer C, Georg C, Kraus S et al. CD44s, E-cadherin and PCNA as markers for progression in renal cell carcinoma. *Anticancer Res* 1999; 19 (2C): 1513-1517
 50. de Alava E, Panizo A, Sola I et al. CD44v6 expression is related to progression in renal epithelial tumours. *Histopathology* 1998; 33 (1): 39-45
 51. Gunthert U, Stauder R, Mayer B et al. Are CD44 variant isoforms involved in human tumour progression? *Cancer Surv* 1995; 24: 19-42
 52. Gilcrease MZ, Guzman-Paz M, Niehans G et al. Correlation of CD44S expression in renal clear cell carcinomas with subsequent tumor progression or recurrence. *Cancer* 1999; 86 (11): 2320-2326
 53. Francois C, van Velthoven R, De Lathouwer et al. Galectin-1 and galectin-3 binding pattern expression in renal cell carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1999; 112 (2): 194-203

54. Ghanem MA, Van Der Kwast TH, Den Hollander JC et al. Expression and prognostic value of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor- α , and c-erb B-2 in nephroblastoma. *Cancer* 2001; 92 (12): 3120-3129
55. Ramp U, Jaquet K, Reinecke P et al. Acquisition of TGF- β 1 resistance: an important progression factor in human renal cell carcinoma. *Lab Invest* 1997; 76 (5): 739-749
56. Papadopoulos I, Weichert-Jacobsen K, Wacker HH, Sprenger E. Correlation between DNA ploidy, proliferation marker Ki-67 and early tumor progression in renal cell carcinoma. A prospective study. *Eur Urol* 1997; 31(1): 49-53
57. Haitel A, Wiener HG, Migschitz B et al. Proliferating cell nuclear antigen and MIB-1. An alternative to classic prognostic indicators in renal cell carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1997; 107 (2): 229-235
58. Mitsumori K, Kittleson JM, Itoh N et al. Chromosome 14q LOH in localized clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol* 2002; 198 (1): 110-114
59. Diakoumis E, Sourvinos G, Kiaris H et al. Genetic instability in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 1998; 33 (2): 227-232
60. Willers CP, Siebert R, Bardenheuer W et al. Genetic instability of 3p12-p21-specific microsatellite sequences in renal cell carcinoma. *Br J Urol* 1996; 77 (4): 524-529
61. Terpe HJ, Storkel S, Zimmer U et al. Expression of CD44 isoforms in renal cell tumors. Positive correlation to tumor differentiation. *Br J Urol* 1997; 87 (4): 424-429
62. Cairns P, Tokino K, Eby Y, Sidransky D. Localization of tumor suppressor loci on chromosome 9 in primary human renal cell carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55 (2): 224-227
63. Polascik TJ, Cairns P, Epstein JI et al. Distal nephron renal tumors: microsatellite allelotype. *Cancer Res* 1996; 56 (8): 1892-1895
64. Fujioka T, Hasegawa M, Suzuki Y et al. Telomerase activity in human renal cell carcinoma. *Int J Urol* 2000; 7 (1): 16-21
65. Dahse R, Fiedler W, Junker K et al. Telomerase activity and telomere lengths: alterations in renal cell carcinomas. *Kidney Int* 1999; 56 (4): 1289-1290
66. Tuzel E, Kirkali Z, Yorukoglu K et al. Metallothionein expression in renal cell carcinoma: subcellular localization and prognostic significance. *J Urol* 2001; 165 (5): 1710-1713
67. Wang L, Darling J, Zhang JS et al. Incidence of apoptosis and metallothionein expression in renal cell carcinoma. *Oncogene* 1998; 16 (5): 635-642
68. Braun C, Engel M, Seifert M et al. Expression of calpain I messenger RNA in human renal cell carcinoma: correlation with lymph node metastasis and histological type. *Int J Cancer* 1999; 84 (1): 6-9
69. Takenawa J, Kaneko Y, Kishishita M et al. Transcript levels of aquaporin 1 and carbonic anhydrase IV as predictive indicators for prognosis of renal cell carcinoma patients after nephrectomy. *Jpn J Cancer Res* 1994;89(3): 324-329
70. Takashi M, Sakata T, Kato K. Use of serum gamma-enolase and aldolase A in combination as markers for renal cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84 (3): 304-309
71. Kitamura Y, Watanabe M, Komatsubara S, Sakata Y. Urinary excretion of glycine, proline dipeptidase, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, alanine aminopeptidase and low molecular protein in patients with renal cell carcinoma. *Hinyokika Kyo* 1990; 36 (5): 535-539
72. Nakagawa Y, Sirivongs D, Novy MB et al. Nephrocalcin: biosynthesis by human renal carcinoma cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 1999; 52 (6): 1573-1579
73. Balitskaia OV, Berdinskikh NK, Kononenko NG. The possibilities of using the free polyamines of the peripheral blood as biochemical tumor markers in nephroblastoma in children. *Vopr Onkol* 1992; 38 (6): 674-682

Поступила в редакцию 22.11.2005 г.