

## РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ РЕЦЕПТОРОВ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ 1-ГО И 2-ГО ТИПОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ

**А.В. Колпаков**

соискатель, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

**Е.С. Герштейн**

д.б.н., вед. науч. сотрудник,

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (Москва)

E-mail: esgershtein@gmail.com

**И.В. Бабкина**

д.м.н., вед. науч. сотрудник,

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (Москва)

**С.Д. Бежанова**

аспирант, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (Москва)

**А.А. Морозов**

соискатель, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

**А.А. Алферов**

аспирант, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

**Н.А. Огнерубов**

д.м.н., профессор, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина (Тамбов)

**Д.Ю. Пушкарь**

д.м.н., профессор, член-корр. РАН,

зав. кафедрой урологии, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

Проведено иммуноферментное исследование VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови 24 здоровых доноров, 100 больных почечно-клеточным раком до начала лечения и 14 больных доброкачественными новообразованиями почки в возрасте от 29 до 84 лет. Получены результаты, свидетельствующие о перспективности дальнейших исследований по изучению содержания VEGFR1 и VEGFR2 в периферической крови больных раком почки для выявления возможности их использования в мониторинге и оценке прогноза заболевания.

**Ключевые слова:** рак почки, VEGFR1, VEGFR2, сыворотка крови.

Почечно-клеточный рак – злокачественная опухоль почки, которая развивается из эпителия проксимальных канальцев и собирательных трубочек [1] и составляет 5% всех злокачественных опухолей у мужчин и 3% у женщин [2, 3].

За 10 лет (2005–2015 гг.) заболеваемость раком почки увеличилась как во всем мире, так и в России; среднегодовой темп прироста заболеваемости населения составил 2,47% [4]. Большинство онкологов относят рак почки в прогностическом плане к крайне неблагоприятным заболеваниям [5]. Это подтверждается тем, что у 4–25% больных новообразование имеет тенденцию к формированию опухолевых венозных тромбов с распространением последних по просвету венозных сосудов – почечной вене и нижней полой вене вплоть до правого предсердия [6].

Основанием для проведения настоящей работы послужили результаты экспериментальных ис-

следований и клинических наблюдений о роли ангиогенеза в развитии различных опухолей, в том числе, почечно-клеточного рака [7]. Кроме того, получены значимые для практической онкологии данные об эффективности антиангиогенной таргетной терапии у больных раком почки и роли ряда активаторов ангиогенеза в прогрессии опухолевого процесса.

Важным событием в исследовании ангиогенеза стало открытие фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), которое было сделано независимо друг от друга, по крайней мере, четырьмя группами ученых [8–11]. Семейство VEGF включает семь ростовых факторов: VEGF-A (более раннее обозначение – VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E и плацентарные ростовые факторы (P1GF-1, P1GF-2) [12, 13]. Поскольку VEGF отводят ключевую роль в активации ангиогенеза, пристальное внимание исследователей направлено

также на изучение его трансмембранных рецепторов (VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3).

Наиболее значимым и распространенным регулятором ангиогенеза является VEGF-A. По своей структуре он представлен в пяти изоформах – VEGF(121), VEGF(145), VEGF(165), VEGF(189) и VEGF(206), которые различаются по длине полипептидной цепи, имеют сходную биологическую активность, но существенно различаются по биологической доступности [7, 14]. Структурные различия изоформ VEGF обуславливают различия в их физико-химических и биологических свойствах.

VEGF может взаимодействовать с эндотелиальными клетками с помощью, по крайней мере, двух различных механизмов: либо как свободный, полностью растворимый белок VEGF(121) или VEGF(165), либо в результате активации протеаз и расщепления более крупных изоформ. Образование биологически активного VEGF после протеолитического расщепления предшественника может играть особенно важную роль в процессах опухолевого роста, поскольку известно, что в этих тканях наблюдается повышенная экспрессия матриксных металлопротеиназ, а также активаторов плазминогена тканевого и урокиназного типов. В секретирующих VEGF нормальных и опухольтрансформированных клетках основной изоформой VEGF-A является VEGF-165.

Повышенная проницаемость, связанная с усиленной продукцией опухолевыми клетками вазодиллятора оксида азота на фоне гиперэкспрессии VEGF, является важной особенностью сосудов, питающих опухоль. При этом повышенная проницаемость сосудов опухоли способствует проникновению опухолевых клеток в кровеносную систему и гематогенному распространению метастазов [15].

VEGF играет важную роль в регуляции экспрессии мембраносвязанных белков эндотелиальных клеток (интегринов, кадгеринов, синдеканов, эфринов), которые принимают участие в механизмах проницаемости сосудов [16]. Показано, что уровень VEGF повышен в тех тканях, где активно протекает ангиогенез, а рецепторы экспрессируются преимущественно на эндотелиальных клетках ближайших кровеносных сосудов. Вместе с тем известно, что VEGF продуцируется макрофагами и другими клетками иммунной системы, инфильтрирующими опухоль. Показано, что многие злокачественные опухоли активно экспресси-

руют VEGF, среди них рак молочной железы (РМЖ), яичников, эндометрия, почки [17–20].

VEGF проявляет свой биологический эффект посредством взаимодействия с трансмембранными тирозинкиназными рецепторами (VEGFR), расположенными на поверхности эндотелиальной клетки. После прикрепления VEGF к экстрацеллюлярной области рецептора, димеризации и аутофосфорилирования последнего, внутриклеточный участок рецептора способствует запуску каскадной активации белков, которые в свою очередь воздействуют на различные составляющие ангиогенеза [21]. Обсуждается несколько механизмов, с помощью которых VEGF активирует неоангиогенез. Так, VEGF стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток, увеличивает их миграционную способность и, частично, активирует гены, участвующие в протеолизе [12]. В большинстве тканей человека эти эффекты могут синергично усиливаться другими ангиогенными факторами. При искусственном снижении уровня VEGF происходит регрессия недавно образованных капилляров в опухоли, но не капилляров в нормальной ткани.

Известно, что VEGF-A с более высокой аффинностью связывается с VEGFR1, чем с VEGFR2 ( $\approx 10$  пМ vs 75–750 пМ) [13]. Полагают, что VEGFR1 и sVEGFR1 модулируют концентрацию VEGF-A и контролируют стимуляцию VEGFR2. VEGFR1 экспрессируется моноцитами и макрофагами, которые принимают участие в процессах миграции клеток.

Вовлеченность VEGF/VEGFR сигналинга в процессы роста и прогрессирования опухоли доказана при различных злокачественных новообразованиях, включая рак яичников, колоректальный рак, мелкоклеточный рак легкого, РМЖ, рак почки и др. Показан прямой эффект VEGF-A на пролиферацию опухолевых клеток через VEGFR2 путем вовлечения АКТ/mTOR сигнального пути. Степень специфического связывания лиганд-рецептора выше у VEGF-B, PlGF-1, PlGF-2 по отношению к VEGFR1, тогда как VEGF-A эффективно связывается с обоими рецепторами VEGFR1 и VEGFR2.

Пристальный интерес исследователей к проблеме неоангиогенеза при раке почки связан с тем, что, с одной стороны, опухоль не может расти и развиваться без снабжения питательными веществами и кислородом, которое осуществляется через внутриопухолевую капиллярную сеть, с другой

стороны, ангиогенез способствует более свободной инвазии клеток в окружающие органы и ткани, облегчая этим процесс метастазирования. Метастазы, в свою очередь, также могут быть островками активного неоангиогенеза, а следовательно, и опухолевой диссеминации [22]. Известно, что у 15% пациентов с впервые выявленным почечно-клеточным раком выявляются метастазы, а у 30% леченых больных локализованным раком почки развивается рецидив заболевания или отдаленные метастазы [23], поэтому таргетная антиангиогенная терапия, направленная на систему VEGF, включена как в первую, так и во вторую линии химиотерапии метастатического рака почки [24].

В раннем исследовании К. Sato и соавт. [25] показали, что сывороточный VEGF может служить диагностическим маркером рака почки (чувствительность 80%, специфичность 71,7%), поскольку его уровень был статистически достоверно выше у больных почечно-клеточным раком, чем у здоровых людей. Статистически значимое повышение уровня VEGF в сыворотке крови больных раком почки относительно контроля подтвердили позднее L. Schips и соавт. [26]. Гиперэкспрессия VEGF наиболее часто выявляется у больных светлоклеточным раком почки, поскольку для этого гистологического типа характерна инактивация опухоль-супрессорного гена VHL, приводящая к активации синтеза этого фактора роста [27]. Важным аспектом в изучении опухолевого ангиогенеза в настоящее время является использование VEGF и его рецепторов в качестве маркеров прогноза болезни и эффективности антиангиогенной терапии. Так, установлено неблагоприятное прогностическое значение тканевой гиперэкспрессии VEGF при раке почки [28, 29].

Важно отметить, что использовавшийся ранее эмпирический подход со случайным подбором биологически активных веществ, постепенно замещается поиском действительно специфических противораковых средств, направленных на основные мишени опухолевой трансформации, в том числе и на активаторы ангиогенеза [30–33]. Например, в настоящее время, широко используют низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназных рецепторов (ТКР): сорафениб, сунитиб, пазопаниб, акситиниб, тивозаниб. Механизм действия этой группы препаратов связан с тем, что, проникая внутрь клетки и конкурируя с АТФ за АТФ-связывающий внутриклеточный домен ТКР, они предотвращают фосфорилирование тирозиновых

остатков внутриклеточных белков, тем самым блокируя дальнейшую передачу сигнала к ядру клетки, что приводит к снижению васкуляризации и угнетению роста опухоли [34]. Мишенью для низкомолекулярных ингибиторов тирозинкиназ при почечно-клеточном раке являются рецепторы VEGFR, PDGFR и EGFR. Также продемонстрировано неблагоприятное прогностическое значение тканевой гиперэкспрессии VEGF при раке почки [29].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – сравнительный анализ исходных уровней растворимых рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови здоровых людей, больных раком и доброкачественными новообразованиями почки с учетом клинико-морфологических характеристик заболевания.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовали 100 первичных больных почечно-клеточным раком (светлоклеточный – 84, хромофобный – 7, папиллярный 1-го типа – 6, папиллярный 2-го типа – 3) и 14 – доброкачественными новообразованиями почки в возрасте 29–84 лет. Все пациенты проходили обследование и лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2014–2017 гг. Группа контроля состояла из 24 практически здоровых доноров (12 мужчин и 12 женщин) соответствующего возраста.

Определение концентрации VEGFR1 и VEGFR2 проводили в сыворотке крови до начала лечения иммуноферментным методом с использованием наборов реактивов фирмы «R&D» (США) согласно инструкции производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе «BEP 2000 Advance» («Siemens Healthcare Diagnostics», Германия). Концентрации исследованных показателей в сыворотке крови выражали: VEGFR1 – в пикограммах на миллилитр, VEGFR2 – в нанограммах на миллилитр.

Все вычисления и статистический анализ результатов проводили с помощью пакета статистических программ «Statistica для Windows». При выборе статистических процедур учитывали методологические требования Международного конгресса по гармонизации GGP «Статистические принципы для клинических исследований».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Концентрация VEGFR1 в сыворотке крови здоровых доноров была достоверно ниже, чем у

больных раком почки (медианы 83,0 и 105 пг/мл соответственно,  $p=0,03$ ). При доброкачественных новообразованиях почки медиана VEGFR1 составила 94,0 пг/мл и достоверно не отличалась от показателей в контроле и у больных раком почки (табл. 1).

Уровни VEGFR2 в контроле были достоверно ниже, чем при раке почки (медиана 9,7 и 13,4 нг/мл соответственно,  $p=0,013$ ). При доброкачественных новообразованиях почки медиана составила 13,3 нг/мл и была сопоставима с таковой у больных раком почки, однако статистический анализ не выявил достоверных различий с группой контроля.

Анализ уровней рецепторов VEGFR показал, что высокие значения показателей VEGFR1 и VEGFR2 при доброкачественных новообразованиях

почки встречались соответственно в 2 и 3 раза реже, чем при раке почки. Частота превышения значений 95%ДИ в контроле VEGFR1 (157 пг/мл) и VEGFR2 (17,8 нг/мл), составила при раке почки 12 и 22% соответственно, при доброкачественных новообразованиях почки – 7%.

Не выявлено достоверных корреляционных взаимосвязей между возрастом пациентов и содержанием VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови ни в группе контроля, ни у больных с новообразованиями почки.

Дисперсионный анализ также не выявил значимых взаимосвязей между возрастом пациентов и концентрациями рецепторов VEGFR. Однако при раке почки у пациентов старше 70 лет уровни изученных маркеров были более низкими (медиана VEGFR1 – 97,1 пг/мл, VEGFR2 – 8,9 нг/мл).

**Таблица 1. Концентрации VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови обследованных групп больных новообразованиями почки и здоровых доноров**

Обследованные группы	N	VEGFR1, пг/мл		VEGFR2, нг/мл	
		Медиана; квартили	Пределы; 95%ДИ	Медиана; квартили	Пределы; 95%ДИ
Контроль <sup>0</sup>	24	83,0; 60,5–112	0–199; 0–157	9,7; 7,2–15,5	4,4–19,1; 4,6–17,8
Рак почки <sup>1</sup>	100	105; 83,3–132	10,8–634; 31,1–292	13,4; 9,1–16,8	3,5–45,8; 5,9–29,1
Доброкачественные новообразования почки <sup>2</sup>	14	94,0; 73,7–94,0	27,2–171; 27,2–171	13,3; 8,5–16,2	5,7–18,1; 5,7–18,1
<i>p</i>		<b>0<sub>vs1</sub>=0,03;</b> 0 <sub>vs2</sub> =0,76; 1 <sub>vs2</sub> =0,17		<b>0<sub>vs1</sub>=0,013;</b> 0 <sub>vs2</sub> =0,42; 1 <sub>vs2</sub> =0,29	

**Таблица 2. Концентрации рецепторов VEGF в сыворотке крови больных раком почки с учетом стадии заболевания**

Стадия	N	Маркеры в сыворотке крови (медиана; квартили)	
		VEGFR1, пг/мл	VEGFR2, нг/мл
I	51	101 <sup>1</sup> ; 74,2–114	11,2; 8,6–23,2
II	13	110 <sup>2</sup> ; 93,2–115	15,5; 7,6–18,3
III	15	123 <sup>3</sup> ; 89,1–165	13,5; 11,1–16,6
IV	21	131 <sup>4</sup> ; 95,3–151	13,8; 11,3–16,8
<i>p</i>		<b>1,2<sub>vs3,4</sub>&lt;0,05</b>	>0,05

**Таблица 3. Частота выявления сывороточных уровней рецепторов VEGF, превышающих показатели практически здоровых людей, в зависимости от стадии почечно-клеточного рака**

Стадия	VEGFR1 >160 пг/мл	VEGFR2 >18 нг/мл
I	2 <sup>1</sup> (3,9%)	13 (25,5%)
II	1 <sup>2</sup> (7,7%)	2 (15,4%)
III	4 <sup>3</sup> (26,7%)	3 (20,0%)
IV	5 <sup>4</sup> (23,8%)	4 (19,1%)
<i>p</i>	<b>1,2,vs3,4=0,027</b>	>0,05

**Таблица 4. Содержание рецепторов VEGFR в сыворотке крови больных раком почки с учетом критериев системы TNM**

Критерии TNM	N	Маркеры в сыворотке крови (медиана; квартили)	
		VEGFR1, пг/мл	VEGFR2, нг/мл
T1	50	101; 75,7–110	13,9; 9,6–18,3
T2	19	115; 95,6–144	13,5; 11,7–18,1
T3	27	123; 95,3–165	12,2; 8,3–14,5
T4	4	72; 59,6–89,8	11,4; 7,4–14,9
<i>p</i>		<b>1,vs3=0,002</b>	>0,05
N0	83	104; 83,0–125	13,4; 9,6–17,8
N1	9	83,7; 60,5–168	13,9; 10,9–14,5
N2	8	143; 107–208	10,1; 6,4–14,6
<i>p</i>		<b>0,vs2=0,03</b>	0,vs2=0,11
M0	90	105; 83,7–130	13,1; 8,9–16,8
M1	10	119; 75,8–168	14,2; 11,3–18,1
<i>p</i>		>0,05	>0,05

Группа больных раком почки состояла из 60 мужчин и 40 женщин. Достоверных отличий в содержании рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови по медиане не выявлено. Медиана VEGFR1 у мужчин составила 108 пг/мл, у женщин – 103 пг/мл, медиана VEGFR2 у мужчин – 13,6 нг/мл, у женщин – 13,1 пг/мл.

Изучили содержание рецепторов VEGFR в сыворотке крови больных раком почки с учетом стадии заболевания – одного из ключевых факторов, определяющих прогноз клинического течения болезни (табл. 2), а также частоту превышения порогового уровня маркеров относительно показателей контрольной группы (табл. 3).

Как следует из данных, приведенных в табл. 2, медианы содержания VEGFR1 в сыворотке крови больных раком почки I и II стадий значимо не различались (101 и 110 пг/мл соответственно), но были достоверно ниже, чем у пациентов с III и IV стадиями (соответственно 123 и 131 пг/мл;  $p = 0,018$ ). Достоверных различий в уровнях VEGFR2 в зависимости от стадии заболевания не выявлено, однако следует отметить, что уровни этого маркера были наименьшими при I стадии заболевания (медиана 11,2 нг/мл).

В табл. 3 представлена частота выявления уровней рецепторов VEGF, превышающих показатели практически здоровых людей, у больных раком почки в зависимости от стадии заболевания. Частота превышения уровня VEGFR1 относительно показателей группы контроля была наименьшей при I стадии (3,9%), незначительно повышалась до 7,7% при II стадии и была достоверно выше у пациентов с III и IV стадиями (26,7 и 23,8% соответственно). Значимой взаимосвязи между частотой выявления уровней VEGFR2, превышающих показатели практически здоровых людей, и стадией рака почки не обнаружено.

На следующем этапе был проведен анализ содержания рецепторов VEGF в сыворотке крови больных раком почки с учетом критериев системы TNM (табл. 4).

При раке почки с параметрами опухоли, соответствующими критерию T3, уровни VEGFR1 были достоверно выше, чем при T1 ( $p=0,002$ ), а наименьшие уровни VEGFR1 (72 пг/мл) и VEGFR2 (11,4 нг/мл) выявлены в группе с критерием T4. Медиана концентрации VEGFR2 достоверно снижалась по мере увеличения критерия T и также была наименьшей в группе больных с T4 (10,1 нг/мл). Концентрация VEGFR1 была досто-

верно выше при поражении лимфатических узлов, соответствующем критерию N2, чем при интактных лимфатических узлах (N0) (медианы 143 и 104 пг/мл соответственно). При наличии отдаленных метастазов у больных раком почки уровни обоих рецепторов в сыворотке крови были не достоверно выше, чем у больных без метастазов.

При наличии отдаленных метастазов частота выявления уровней VEGFR1, превышающих показатели практически здоровых людей, была достоверно выше, чем у пациентов без метастазов (30 и 10% соответственно;  $p=0,065$ ). Взаимосвязи между частотой выявления уровней VEGFR2, превышающих показатели практически здоровых людей, и критериями системы TNM не выявлено.

Проведен анализ исходных концентраций рецепторов VEGF 1-го и 2-го типов в сыворотке крови больных раком почки с учетом степени дифференцировки опухоли (табл. 5).

**Таблица 5. Концентрации рецепторов VEGF в сыворотке крови больных раком почки с учетом степени дифференцировки опухоли**

Степень дифференцировки опухоли	N	Показатели (медиана; квартили)	
		VEGFR1, пг/мл	VEGFR2, нг/мл
GI	7	117; 97,1–135	15,8; 10,9–17,4
GII	67	103; 79,0–124	13,0; 8,7–16,7
GIII	16	114; 92,5–163	13,5; 8,3–15,3
GIV	10	115; 101–141	12,5; 10,2–20,1
<i>p</i>		>0,05	>0,05

Как следует из данных табл. 5, достоверных различий в содержании рецепторов VEGF с учетом степени дифференцировки опухоли не выявлено.

Не установлено и значимых различий в концентрациях рецепторов VEGF в сыворотке крови больных раком почки в зависимости от морфологического варианта строения опухоли. Однако следует отметить, что наибольшие уровни VEGFR1 выявлены в группе больных с папиллярным раком PaRCC 2-го варианта строения опухоли (медиана 139 пг/мл), а наибольшие концентрации VEGFR2 – папиллярным раком PaRCC 1-го варианта строения (медиана 16,9 нг/мл).

Обнаружено повышение концентраций сывороточного VEGFR1 при увеличении индекса Карновского у больных раком почки, однако различия не были статистически достоверными. Взаимосвязи между содержанием VEGFR2 в крови и показателем индекса Карновского не выявили.

Изучая концентрацию сывороточных рецепторов VEGF в зависимости от индекса массы тела больных раком почки, взаимосвязи в общей группе не обнаружили. В группе мужчин с массой тела ниже нормы концентрация VEGFR1 была достоверно выше, чем у пациентов с избыточной массой тела ( $p=0,028$ ). Кроме того, в группе мужчин выявлена достоверная обратная корреляционная взаимосвязь между соотношением рецепторов VEGFR1/VEGFR2 и ИМТ ( $r_s = -0,27$ ;  $p = 0,038$ ).

При двухстороннем поражении почки уровни VEGFR1 в крови были ниже, чем одностороннем, однако различия не были статистически достоверными. Различий в уровнях VEGFR2 не отметили.

Анализировали концентрации рецепторов в крови в зависимости от анатомической локализации опухоли в органе. Достоверных закономерностей как для VEGFR1, так и для VEGFR2 не обнаружили, однако следует отметить, что концентрация VEGFR1 была наименьшей при локализации опухоли в нижнем отделе почки (медиана 94,8 пг/мл) и наибольшей – при тотальном поражении паренхимы почки опухолью (медиана 126 пг/мл).

Эффект лечения был оценен у 87 больных раком почки: у 78 – выявлен полный эффект лечения, у 9 – частичный. Результат зависел от стадии заболевания ( $p = 0,00019$ ), частота наступления полного эффекта лечения снижалась по мере увеличения стадии заболевания с 96 до 40%. При оценке эффективности лечения с учетом уровней рецепторов VEGF отметили, что частота полного эффекта от лечения составила 92,3% у больных с уровнями VEGFR1, не превышающими показатели практически здоровых людей, и 66,7% – в группе пациентов с показателями, превышающими уровни, полученные в группе контроля ( $p = 0,017$ ). Частота полного эффекта от лечения у больных с уровнями VEGFR2, не превышающими показатели практически здоровых людей, составила 87%, а в группе пациентов с показателями, превышающими уровни, полученные в группе контроля, – 89,5% ( $p = 0,11$ ). Дальнейший анализ показал, что при раке почки I стадии и уровнях VEGFR1 в крови менее 160 пг/мл частота полного эффекта лечения составила 97,9%; при II стадии –

90%. При III стадии заболевания и уровнях VEGFR1 в крови менее 160 пг/мл частота полного эффекта от лечения составила 100%, тогда как при концентрациях VEGFR1 более 160 пг/мл – 67,7%. В группе больных с IV стадией при низких уровнях VEGFR1 (<160 пг/мл) частота полного эффекта лечения составила 63,6%, а при высоких (>160 пг/мл) уровнях маркера у всех больных достигнут только частичный эффект.

Подводя итоги настоящего исследования, отметим, что уровни VEGFR1 в сыворотке крови больных раком и доброкачественными новообразованиями почки не различались, но показатели больных раком почки были достоверно выше, чем в контроле. Концентрация VEGFR2 в сыворотке крови больных раком была достоверно выше, чем в контроле ( $p = 0,013$ ) и не отличалась от показателей пациентов с доброкачественными новообразованиями почки. Взаимосвязи между исходными уровнями VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови и полом, возрастом больных, показателями критериев системы TNM, степенью дифференцировки опухоли, а также морфологическим вариантом строения опухоли при раке почки не выявили. Достоверных корреляционных взаимосвязей между возрастом пациентов и показателями VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови ни у практически здоровых доноров, ни у больных с новообразованиями почки не обнаружено. Частота превышения уровня VEGFR1 относительно группы контроля при I и II стадиях была достоверно ниже, чем при III-IV стадиях ( $p = 0,027$ ). Взаимосвязи частоты выявления повышенных уровней VEGFR2 со стадией рака почки не отмечено. Эффект лечения зависел от стадии заболевания ( $p = 0,00019$ ), частота наступления полного эффекта лечения снижалась по мере увеличения стадии заболевания с 96 до 40%. У больных с уровнями VEGFR1 в крови, не превышающими показатели практически здоровых людей, частота полного эффекта от лечения составила 92,3%, а в группе пациентов с показателями, превышающими уровни, полученные в группе контроля, она была достоверно ниже – 66,7% ( $p = 0,017$ ). Частота полного эффекта лечения у больных с уровнями VEGFR2, не превышающими показатели практически здоровых людей, составила 87%, в группе пациентов с показателями, превышающими уровни, полученные в группе контроля, – 89,5% ( $p = 0,11$ ).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности проведения дальнейших исследований по изучению содержания

VEGFR1 и VEGFR2 в периферической крови при раке почки для оценки возможности их использования в качестве маркеров прогноза заболевания.

## ВЫВОДЫ

1. Содержание рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком достоверно выше, чем у практически здоровых людей соответствующего возраста.
2. Содержание VEGFR1 в сыворотке крови при раке почки I-II стадий достоверно ниже, чем у пациентов с III-IV стадиями.
3. При раке почки с параметрами, соответствующими критерию T3, сывороточные уровни VEGFR1 достоверно выше, чем при T1.
4. Различий в сывороточных уровнях VEGFR1 и VEGFR2 у больных почечно-клеточным раком в зависимости от наличия или отсутствия отдаленных метастазов не выявлено.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Безжанова С.Д.* Опухоли почек. Новая классификация опухолей уrogenитальной системы Всемирной организации здравоохранения 2016 г. // Архив патологии. 2017. Т. 79. № 2. С. 48–52 (Bezhanova S.D. Opuhkoli pochek. Novaya klassifikatsiya opukholey urogenital'noy sistemy Vsemirnoy organizatsii zdravookhraneniya 2016 g. Arkhiv patologii. 2017; 79(2): 48–52).
2. *Znaor A., Lortet-Tieulent J., Laversanne M., Jemal A., Bray F.* International variations and trends in renal cell carcinoma incidence and mortality // Eur. Urol. 2015. V. 67. № 3. P. 519–530.
3. *Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A.* Cancer statistics // CA Cancer J. Clin. 2016. V. 66. № 1. P. 7–30.
4. *Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В.* (Под ред.) Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М.: Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России. 2017. 250 с. (Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. (Pod red.) Zlokachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 godu (zabolevayemost' i smertnost'). M.: Moskovskiy nauchno-issledovatel'skiy onkologicheskij institut im. P.A. Gertsena - filial FGBU «Natsional'nyy meditsinskiy issledovatel'skiy radiologicheskij tsentr» Minzdrava Rossii. 2017. 250 s.).
5. *Patel N.S., Muneer A., Blick C., Arya M., Harris A.L.* Targeting vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma // Tumour Biol. 2009. V. 30. № 5–6. P. 292–299.
6. *Давыдов М.И., Матвеев В.Б., Волкова М.И., Бегалиев А.К., Феоктистов П.И., Кузнецов К.П., Нехаев И.В., Ломидзе С.В., Жижгинова О.В., Огородникова Е.В., Абгарян М.Г., Черняев В.А., Климов А.В.* Хирургическое лечение больных раком почки с массивной опухолевой инвазией нижней полой вены // Онкоурология. 2017. V. 13. № 1. P. 27–36 (Davydov M.I., Matveyev V.B., Volkova M.I., Begaliyev A.K., Feoktistov P.I., Kuznetsov K.P., Nekhayev

- I.V., Lomidze S.V., Zhizhginova O.V., Ogorodnikova Ye.V., Abgaryan M.G., Chernyayev V.A., Klimov A.V. Khirurgicheskiye lecheniya bol'nykh rakom pochki s massivnoy opukholyeivoj invazyiyei nizhney poloju veny. *Onkourologiya*. 2017; 13 (1): 27–36).
7. *Герштейн Е.С., Кушлинский Д.Н.* Факторы роста эндотелия сосудов при различных онкологических заболеваниях / В кн.: «Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования» / Под ред. *Кушлинского Н.Е. и М.А. Красильникова*. М. Издательство РАМН. 2017. С. 231–268 (*Gershteyn Ye.S., Kushlinskiy D.N.* Faktory rosta endoteliya sudovov pri razlichnykh onkologicheskikh zabolevaniyakh. V kn.: «Biologicheskiye markery opukholey: fundamental'nyye i klinicheskiye issledovaniya» / Pod red. *Kushlinskogo N.Ye. i Krasil'nikova M.* Izdatel'stvo RAMN. 2017; 231–268).
  8. *Gospodarowicz D., Abraham J.A., Schilling J.* Isolation and characterization of a vascular endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo stellate cells // *Proc. Natl. Sci. USA*. 1989. V. 86. № 19. P. 7311–7315.
  9. *Keck P.J., Hauser S.D., Krivi G., Sanzo K., Warren T., Feder J., Connolly D.T.* Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF // *Science*. 1989. V. 246. № 4935. P. 1309–1312.
  10. *Leung D.W., Cachianes G., Kuan W.J., Goeddel D.V., Ferrara N.* Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen // *Science*. 1989. V. 246. № 4935. P. 1306–1309.
  11. *Conn G., Soderman D.D., Schaeffer M.T., Wile M., Hatcher V.B., Thomas K.A.* Purification of a glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1990. V. 87. № 4. P. 1323–1327.
  12. *Hicklin D.J., Ellis L.M.* Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis // *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23. № 5. P. 1011–1027.
  13. *Roskoski R. (Jr.)* Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2007. V. 62. № 3. P. 179–213.
  14. *Ourradi K., Blythe T., Jarrett C., Barratt S.L., Welsh G.I., Millar A.B.* VEGF isoforms have differential effects on permeability of human pulmonary microvascular endothelial cells // *Respir. Res.* 2017. V. 18. № 1. P. 116.
  15. *Gavalas N.G., Lontos M., Trachana S.P., Bagratuni T., Arapinis C., Liacos C., Dimopoulos M.A., Bamias A.* Angiogenesis-related pathways in the pathogenesis of ovarian cancer // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. № 8. P. 15885–15909.
  16. *Sidibé A., Polena H., Pernet-Gallay K., Razanajatovo J., Mannic T., Chaumontel N., Bama S., Maréchal I., Huber P., Gulino-Debrac D., Bouillet L., Vilgrain I.* VE-cadherin Y685F knock-in mouse is sensitive to vascular permeability in recurrent angiogenic organs // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2014. V. 307. № 3. P. 455–463.
  17. *Щербаков А.М., Герштейн Е.С., Анурова О.А., Кушлинский Н.Е.* Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы первого и второго типа при раке молочной железы // *Вопросы онкологии*. 2005. Т. 51. № 3. С. 317–321 (*Shcherbakov A.M., Gershteyn Ye.S., Anurova O.A., Kushlinskiy N.Ye.* Faktor rosta endoteliya sudovov i yego retseptov pervogo i vtorogo tipa pri rake molochnoy zhelezy. *Voprosy onkologii*. 2005; 51(3): 317–321).
  18. *Ким Е.А., Герштейн Е.С., Высоцкая И.В., Кушлинский Н.Е.* Экспрессия VEGF и VEGFR2 в опухолях в процессе неадьювантного лечения больных раком молочной железы // *Бюллетень экспериментальной биологической медицины*. 2008. Т. 145. № 2. С. 206–209 (*Kim Ye.A., Gershteyn Ye.S., Vysotskaya I.V., Kushlinskiy N.Ye.* Ekspressiya VEGF i VEGFR2 v opukholyakh v protsesse neoad'yuvannogo lecheniya bol'nykh rakom molochnoy zhelezy // *Bulleten' eksperimental'noy biologicheskoy meditsiny*. 2008. T. 145. № 2. S. 206–209).
  19. *Кушлинский Н.Е., Трапезникова М.Ф., Герштейн Е.С., Глыбин П.В., Казанцева И.А., Кычаков А.А., Морозов А.П.* Фактор роста эндотелия сосудов и его рецептор 2-го типа при раке почки // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2008. Т. 6. № 5. С. 31–33 (*Kushlinskiy N.Ye., Trapeznikova M.F., Gershteyn Ye.S., Glybin P.V., Kazantseva I.A., Kychakov A.A., Morozov A.P.* Faktor rosta endoteliya sudovov i yego retseptor 2 tipa pri rake pochki. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii*. 2008; 6(5):31–33).
  20. *Герштейн Е.С., Грицаенко Е.В., Терешкина И.В., Огнерубов Н.А., Кушлинский Н.Е.* Фактор роста эндотелия сосудов и компоненты системы активации плазминогена в опухолях крупных раком эндометрия: клинико-морфологические корреляции // *Молекулярная медицина*. 2013. № 6. С. 27–32 (*Gershteyn Ye.S., Gritsayenko Ye.V., Tereshkina I.V., Ognerubov N.A., Kushlinskiy N.Ye.* Faktor rosta endoteliya sudovov i komponentov sistemy aktivatsii plazminogena v opukholyakh bol'nykh rakom endometriya: kliniko-morfologicheskiye korrelyatsii. *Molekulyarnaya meditsina*. 2013; 6: 27–32).
  21. *Rini B.I., Small E.J.* Biology and clinical development of vascular endothelial growth factor-targeted therapy in renal cell carcinoma // *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23. № 5. P. 1028–1043.
  22. *Folkman J.* Tumor angiogenesis // *Adv. Cancer Res.* 1985. V. 43. P. 175–230.
  23. *Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // *Int. J. Cancer*. 2015. V. 136. № 5. P. 359–386.
  24. *Powles T., Staehler M., Ljungberg B., Bensalah K., Canfield S.E., Dabestani S., Giles R., Hofmann F., Hora M., Kuczyk M.A., Lam T., Marconi L., Merseburger A.S., Volpe A., Bex A.* Updated EAU guidelines for clear cell renal cancer patients who fail VEGF targeted therapy // *Eur. Urol.* 2016. V. 69. № 1. P. 4–6.
  25. *Sato K., Tsuchiya N., Sasaki R., Shimoda N., Satoh S., Ogawa O., Kato T.* Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with renal cell carcinoma // *Jpn. J. Cancer Res.* 1999. V. 90. № 8. P. 874–879.
  26. *Schips L., Dalpiaz O., Lipsky K., Langner C., Rehak P., Puerstner P., Pummer K., Zigeuner R.* Serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and endostatin in renal cell carcinoma patients compared to a control group // *Eur. Urol.* 2007. V. 51. № 1. P. 168–173.
  27. *Михайленко Д.С., Колпаков А.В., Кушлинский Н.Е.* Соматические мутации – основные события канцерогенеза при светлоклеточном раке почки // *Молекулярная медицина*. 2016. Т. 14. № 4. С. 3–9 (*Mikhaylenko D.S., Kolpakov A.V., Kushlinskiy N.Ye.* Somaticheskiye mutatsii – osnovnyye sobytiya kantserogeneza pri svetloletochnom rake pochki // *Molekulyarnaya meditsina*. 2016; 14(4):3–9).
  28. *Heng D.Y., Xie W., Regan M.M., Warren M.A., Golshayan A.R., Sahi C., Eigel B.J., Ruether J.D., Cheng T., North S., Venner P., Knox J.J., Chi K.N., Kollmannsberger C., McDermott D.F., Oh W.K., Atkins M.B., Bukowski R.M., Rini B.I., Choueiri T.K.* Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: results from a large, multi-center study // *J. Clin. Oncol.* 2009. V. 27. № 34. P. 5794–5799.
  29. *Fujita N., Okegawa T., Terado Y., Tambo M., Higashihara E., Nutahara K.* Serum level and immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor for the prediction



- of postoperative recurrence in renal cell carcinoma // BMC Res. Notes. 2014. № 7. P. 369.
30. Алексеев Б.Я., Калпинский А.С., Мухомедьярова А.А., Нюшко К.М., Каприн А.Д. Таргетная терапия больных метастатическим раком почки неблагоприятного прогноза // Онкоурология. 2017. V. 13. № 2. P. 49–55 (Alekseyev B.Ya., Kalpinskiy A.S., Mukhomed'yarova A.A., Nyushko K.M., Kaprin A.D. Pochvobezопасnosti. Onkourologiya. 2017; 13(2):49–55).
  31. Попов А.М. Таргетная терапия распространенного почечно-клеточного рака // Онкоурология. 2017. V. 13. № 2. P. 56–62 (Popov A.M. Targetnaya terapiya rasprostranennogo pochechno-kletochного рака. Onkourologiya. 2017; 13(2):56–62).
  32. Wedam S.B., Low J.A., Yang S.X., Chow C.K., Choyke P., Danforth D., Hewitt S.M., Berman A., Steinberg S.M., Liewehr D.J., Plehn J., Doshi A., Thomasson D., McCarthy N., Koeppen H., Sherman M., Zujewski J., Camphausen K., Chen H., Swain S.M. Antiangiogenic and antitumor effects of bevacizumab in patients with inflammatory and locally advanced breast cancer // J. Clin. Oncol. 2006. V. 24. № 5. P. 769–777.
  33. Pulaski H.L., Spahlinger G., Silva I.A., McLean K., Kueck A.S., Reynolds R.K., Coukos G., Conejo-Garcia J.R., Buckanovich R.J. Identifying alemtuzumab as an anti-myeloid cell antiangiogenic therapy for the treatment of ovarian cancer // J. Transl. Med. 2009. № 7. P. 49 (Published online 2009, June 19).
  34. Sia D., Alsinet C., Newell P., Villanueva A. VEGF signaling in cancer treatment // Curr. Pharm. Des. 2014. V. 20. № 17. P. 2834–2842.

Поступила 8 сентября 2017 г.

## SOLUBLE FORMS OF TYPES 1 AND 2 ENDOTHEL GROWTH FACTOR RECEPTORS IN BLOOD SERUM OF RENAL-CELL CANCER PATIENTS

© Authors, 2018

### A.V. Kolpakov

Applicant, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine Dentistry (Moscow)

### E.S. Gershnein

Dr.Sc. (Biol.), Professor, Leading Research Scientist,

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of Russia (Moscow)

E-mail: esgershtein@gmail.com

### I.V. Babkina

Dr.Sc. (Med.), Leading Research Scientist,

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of Russia (Moscow)

### S.D. Bezanova

Post-graduate Student, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of Russia (Moscow)

### A.A. Morozov

Applicant, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine Dentistry (Moscow)

### A.A. Alferov

Post-graduate Student, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine Dentistry (Moscow)

### N.A. Ognerubov

Dr.Sc. (Med.), Professor, Tambov State University named after G.R. Derzhavin (Tambov)

### D.Yu. Pushkar

Dr.Sc. (Med.), Professor, Member-Corr. RAS, Head of the Department of Urology,

A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine Dentistry

The data of the comparative enzyme immunoassay VEGFR1 and VEGFR2 in the blood serum of 24 healthy donors, 100 untreated patients with renal cell carcinoma and 14 patients with benign neoplasm of the kidney aged from 29 to 84 years are presented. VEGFR1 and VEGFR2 concentrations were determined in blood serum by R&D ELISA kits (USA). To process the results obtained, we used the statistical software package «Statistica for Windows» and SPSS. Significantly higher median VEGFR1 concentration was detected in blood serum of renal cell carcinoma patients as compared to the control (105 and 83 pg/ml, respectively,  $p = 0.03$ ), but it did not differ from that in patients with benign kidney neoplasms (94 pg/ml). Median VEGFR2 concentration was also significantly higher in patients with kidney cancer than in the control group (13.4 and 9.7 ng/ml, respectively,  $p = 0.013$ ) and did not differ from the marker level in patients with benign neoplasm of the kidney (13.3 ng/ml). Medians of VEGFR1 content in patients with stage I-II kidney cancer did not differ significantly (101 and 110 pg/ml, respectively), but were significantly lower than in patients with stage III-IV disease (123 pg/ml and 131 pg/ml respectively,  $p = 0.018$ ). No significant differences in the levels of VEGFR2 at different stages of renal cell carcinoma were found. VEGFR1 and VEGFR2 levels were not related to patients' age and sex degree of tumor differentiation and its morphological structure. In patients with T3 kidney cancer, VEGFR1 levels were significantly higher than in those with T1. Median VEGFR2 concentration decreased insignificantly with the increase of T criterion and was the lowest in the group of patients with the T4 criterion. VEGFR1 concentration was significantly increased in patients with lymph node involvement corresponding to N2 criterion as compared to those with intact lymph nodes (medians 143 pg/ml and 104 pg/ml, respectively). No differences in VEGFR1 and VEGFR2 serum levels in patients with renal cell carcinoma depending on the presence or absence of distant metastases were found. The results obtained testify to the prospects of further studies of VEGFR1 and VEGFR2 content in peripheral blood of patients with kidney cancer in order to reveal the possibility of their application in monitoring and evaluating the disease prognosis.

**Key words:** kidney cancer, VEGFR1, VEGFR2, blood serum.