ID: 2015-06-1276-A-5299 Оригинальная статья

Никольский Ю.Е., Захарова Н.Б., Чехонацкая М.Л., Понукалин А.Н., Дурнов Д.А.

Значение мочевых молекулярных маркеров в диагностике рака почки

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Ключевые слова: рак почки

В настоящее время для диагностики и контроля за лечением рака почки (РП) помимо лучевых методов визуализации применяют биологические маркеры [2]. Значимость использования биомаркеров в выявлении карциномы почечно-клеточного рака возрастает на ранних стадиях опухолевого роста, когда размер опухоли не превышает 4 см и есть возможность проведения резекции почки. Появление современной панели молекулярно-генетических маркеров связано с результатами генетических исследований [3]. Установлено, что развитие РП происходит вследствие инактивации гена VHL(vonHippel-Lindau), развивающегося при соматических мутациях, аллельных делециях и метилировании. Существует точка зрения, согласно которой хронически протекающее в почечной паренхиме воспаление вызывает альтерацию клеток, вследствии чего может запускать каскад реакций, в результате которых происходит инактивация гена VHL [7]. В результате потери селективности гломерулярного барьера и усиления процессов реабсорбции активируются NFkB зависимая (опосредованная ядерным фактором каппа) и NFkB независимая стимуляция транскрипции генов [5, 6]. Среди продуктов, синтез которых активируется в этих условиях, присутствуют моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1), цитокины, остеопонтин и эндотелин, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [1, 10, 11]. Установлено, что такие белки мочи, как MCP-1 и VEGF,являются маркерами интерстициального воспаления и активации ангиогенеза [12].

В последние годы одним из направлений повышения диагностической эффективности молекулярных маркеров при РП становится определение в моче биомаркеров, участвующих в опухолевой транформации почечной ткани. Моча считается идеальной средой для исследования, и анализ ее протеомного состава относится к быстро развивающейся аналитической технологии, которая направлена на создание нового, неинвазивного метода диагностики заболеваний почек и мочевыводящих путей [8,13]. При РП имеются отдельные исследования, посвященные диагностическому значению изменения концентраций в сыворотке крови MCP-1 и VEGF [9]. Клинико-диагностическое значение экскреции данных маркеров с мочой при РП практически не проводили.

Целью работы явилось выявление диагностического и прогностического значения уровня мочевых биомаркеров (VEGF, MCP-1 и MMP-9 в моче) у больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями почек.

Всего были обследованы 105 человек. В основную группу вошли 49 с РП: группу сравнения составили 16 больных с доброкачественными опухолями почек(ДО); контрольную группу – 30 практически здоровых лиц. Распределение по стадиям заболевания больных РП следующее: T1a - 14 человек; T1b – 12, T2a - 10; T2b - T3 – 15. Распределение пациентов в зависимости от гистологического строения и патоморфологической градации карциномы по критерию Fuhrman: светлоклеточный рак - 44 человека; хромофобный рак - 3; папиллярный рак – 2 пациента. У 38 пациентов опухоль по критерию Fuhrman соответствовала G1, у 8 - G2, у трех больных – G3.

По результатам патологоанатомического исследования размеры опухолевых узлов при РП колебались от 2 см до 12 см (в среднем 7,4 см). Величина доброкачественных опухолей – от 1 см до 5 см (в среднем 3,4 см). У одного из обследуемых определялись 2 злокачественных узла в одной почке. Локализация опухолевого процесса, затрагивающая обе почки, имела место у двух больных РП.

Критерии включения пациентов в основную группу: пациенты с РП: стадии T1aNoMo, T1NoMo, T1NxMo, T2NoMo; T2NxMo; T3aNoMo T3aN1Mo; T3aN2Mo, T4NoMo.

Критерии исключения:

- наличие венной инвазии;
- наличие отдаленных метастазов;
- наличие опухолей других локализаций (в т.ч. рак лоханки и мочеточника, рак предстательной железы);
- заболевания сердечно-сосудистой систем атеросклеротического генеза и артериальная гипертония 3-4 стадий;
- неотложные состояния (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, тромбоэмболия легочной артерии);
- почечная и печеночная недостаточность.

Всем пациентам проведен комплекс обследования, который помимо сбора жалоб, анамнеза и осмотра пациента, включал в себя: стандартное лабораторное обследование - ОАК, ОАМ; содержание креатинина и мочевины в сыворотке крови; инструментальные методы обследования - обзорная и экскреторная урографии; УЗИ почек, мочевого пузыря, предстательной железы у мужчин, регионарных лимфатических узлов, печени (с целью исключения метастатического поражения); рентгенография органов грудной полости (с целью исключения метастатического поражения легких); КТ и МРТ органов забрюшинного пространства с определением среднего размера опухолевого узла; цито- и гистологическое исследования биопсийного и операционного материалов.

Для определения молекулярных маркеров в моче осуществляли сбор утренней, первой порции мочи в специальные стаканы с крышками для сбора мочи. Предварительно в емкость для забора мочи вносили 20 мкл раствора «ProClin 300» («SUPELCO», США). Полученные аликвоты сыворотки крови и мочи размещали в пробирках с крышками «Эппендорф» и хранили до проведения исследования при t 25ºС.С помощью метода иммуноферментного анализа проводили количественное определение в моче MCP-1 и VEGF. Использовали наборы реактивов ЗАО «Вектор Бест», Новосибирск. Определение MMP-9 проводили с помощью набора

реагентов фирмы «Bender Medsystems»,Австрия. Результаты выражали в пк/мл. Для оценки диагностической чувствительности и специфичности вышеперечисленных биомаркеров применяли ROC-анализ. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета Statistica 6.1.

Результаты представлены на рис.1 и 2.

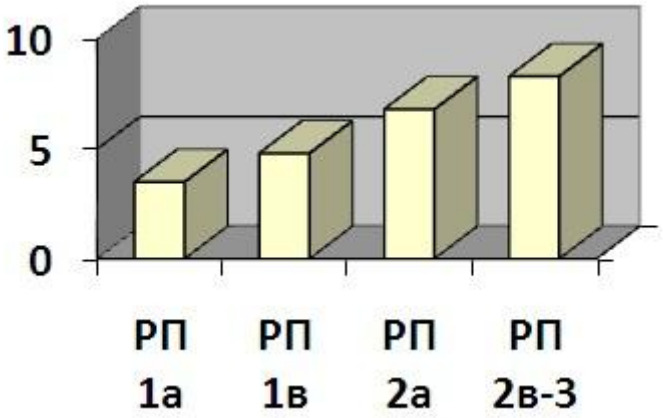

Рис. 1. Средний размер опухолевого узла (см) по данным МРТ у больных со злокачественными опухолями почек.

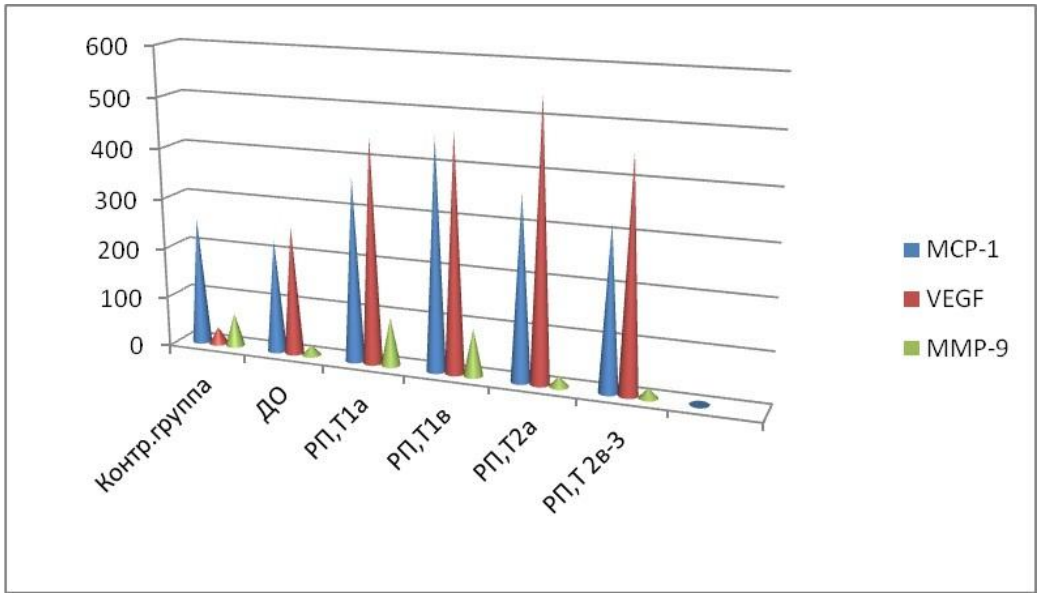

Рис. 2. Содержание биомаркеров мочи(пг/мл) у больных с доброкачественными и злокачественными опухолями почек.

Анализ полученных результатов показал, что одной из особенностей развития злокачественного опухолевого процесса у больных РП является подъем содержания в моче MCP-1, VEGF и MMP-1. У больных с китами почек в моче отмечен подъем только уровня VEGF до 764,3% от его содержания у практически здоровых лиц. Дальнейшее нарастание содержания в моче биомаркеров коррелировало со стадией заболевания и было связано с объемом опухоли почки. На стадии «маленькой опухоли» в почках (результаты КТ и МРТ органов забрюшинного пространства) или образования размерами от 4,8(5,9-4,3)см имел место подъем экскреции с мочой MCP-1 до 200,5%, MMP-9 – 476,8%; VEGF – до 183,5% от содержания данных показателей в моче у больных с кистами почек, то есть начальные этапы опухолевой трансформации ткани почек связаны с активацией воспалительных процессов в интерстиции. По-видимому, это становится причиной инактивации гена VHL и приводит к нарушению соотношения ангиогенных и антиангиогенных факторов. В результате возникают реконструкция сосудистого русла почечной паренхимы, изменение тонуса сосудистого русла и усугубление ишемии, сопровождающееся секрецией в мочу факторов роста, прежде всего VEGF. MMP-9 на данных стадиях опухолевого процесса в почке также достоверно вовлечена в опухолевый ангиогенез.

На стадии Т2в-3 и достижении опухолью почек размеров 6,8(7,1-6,5) см у больных РП имело место снижение содержания биомаркеров. Снижение уровня VEGF достигало 82,7% от его содержания у больных РП на стадии Т2а, MCP-1 – 88,9%. Наиболее выраженным было снижение содержания MMP-9, оно достигало 21,4% от уровня у пациентов РП на стадии Т1а.

Для оценки диагностической значимости концентрации уровней MCP и VEGF мочи у больных РП использовали ROC-анализ и построение характеристической кривой. Установлено, что наибольшую информативность или площадь под характеристической кривой показывает уровень VEGF мочи, То есть его концентрация, превышающая значение точки отсечения, может применяться в качестве критерия злокачественной трансформации опухолевого роста у больных РП. Таким образом, результаты исследования

© Bulletin of Medical Internet Conferences, 2015

одновременно в моче крови таких маркеров, как MCP-1 и VEGF, могут быть использованы в качестве диагностического критерия РП при достижении опухолевой тканью размеров от 4,8 до 6,8 см, по данным КТ и МРТ забрюшинного пространства.

Литература

1. Диагностическое значение метаболического онкомаркера TuM2Pk и фактора роста эндотелия сосудов в стадировании опухолевого процесса при раке почки. / П.В.Глыбочко, Д.А.Дурнов, А.Н.Понукалин и др // Медицинский вестник Башкортостана – 2011.-Т.6 – №2.-С.234-239.
2. Современные аспекты прогнозирования рака почки (обзор литературы). / А.И.Горелов, А.В.Солдатенков, Д.С.Горелов, А.С.Селиванов // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2008.-Сер.11 Вып.№4.-С.153-165.
3. Ангиогенные факторы при почечно-клеточном раке. / М.Ф.Трапезникова, П.А.Глыбин, А.П.Морозов и др. // Онкоурология – 2008.-№4.-С.82-87.
4. Фильченков А.А. Терапевтический потенциал ингибиторов ангиогенеза // Онкология. – 2007. – №9. – С. 321–328.
5. Шишкин А.Н. Факторы роста и гломерулосклероз при диабетической нефропатии // Нефрология. – 2005. – № 4. – С. 104-107.
6. Achievements in urine of the analysis of a proteom and search of biomarkers. / Argiles, Yankovsky of V, GirolamiMA and other. //J Am Soc Nephrol. 2007; 18: P. 1057 - 71.
7. Bergers G., Benjamin L.E. Tumorigenesis and the angiogenic switch // Nat Rev Cancer. – 2003. – Vol.3. – P.401-410.
8. Boguski M.S., Mcintosh M.W. Biomedical informatics for proteomics //Nature 2003; 422:233–237.
9. Li M., Rathmell W.K. The Current Status of Biomarkers for Renal Cell Carcinoma. 2011, P. 153-157. URL: http:www.asco.org/ASCOv2/Home/Education.
10. Regulation of Notch 1 and Dll4 by vascular endothelial growth factor in arterial endothelial cells: implications for modulating arteriogenesis and angiogenesis / Z.L.Liu, T.Shirakawa, Y.Li et al. // Mol. Cell. Biol. 2003. Vol. 23. P. 14–25.
11. Tumor vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA in relation to serum VEGF protein levels and tumor progression in human renal cell carcinoma. / B.Ljungberg, J.Jacobsen, S.Haggstrom-Rudolfsson et al. // Urol. Res. 2003. Vol.31. P.335-340.
12. Cermakova E. Determination of Angiogenic Factors in Serum by Protein Array in Patients with Renal Cell Carcinoma. / S.Lukesova, O.Kopecky, V.Vroblova, et al. // Folia Biologica (Praha), 54. 2008. P. 134-140.
13. Thongboonkerd V. The practical moments in uric proteomik // J Proteome Res 2007; 6: 3881 – 90.