



## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ МОЛЕКУЛ, СВЯЗАННЫХ С КЛЮЧЕВЫМИ СВОЙСТВАМИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

© Д.Г. Пасечник<sup>1</sup>, М.И. Коган<sup>1</sup>, З.М. Ахохов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону;  
<sup>2</sup>МБУЗ «Городская больница скорой медицинской помощи», Таганрог

Для цитирования: Пасечник Д.Г., Коган М.И., Ахохов З.М. Особенности экспрессии и прогностическое значение пептидных молекул, связанных с ключевыми свойствами почечно-клеточного рака // Урологические ведомости. – 2017. – Т. 7. – № 4. – С. 5–16. doi: 10.17816/uroved745-16

Дата поступления: 11.10.2017

Статья принята к печати: 05.12.2017

**Актуальность.** Современный подход к прогнозированию течения рака почки требует поиска биологических маркеров, определяющих ключевые свойства опухоли у конкретного пациента. **Цель исследования** — оценить особенности экспрессии молекул, связанных с фенотипом раковой стволовой клетки (CD133, N-кадгерин), TGF- $\alpha$  — фактора роста для эпителия канальцев и карбоангидразы IX (CA-IX) — одной из ключевых молекул, связанных с VHL-молекулярным путем канцерогенеза при раке почки. **Материалы и методы.** Проанализировано 61 наблюдение почечно-клеточного рака (ПКР). Для иммуногистохимического исследования использовали панель антител, включающую антитела к TGF- $\alpha$  (Abcam), N-кадгерину (клон M3613; Dako), CD133 (Prominin-1, Biorbyt), карбоангидразе IX (CAIX; NCL-L-CAIX, Leica Biosystems). Выраженность экспрессии маркеров оценивалась полуколичественным методом в зависимости от содержания клеток с позитивной реакцией в опухоли. Для выявления различий между сравниваемыми группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни и Хи-квадрат. **Результаты.** Экспрессия TGF- $\alpha$  встретилась в 36 наблюдениях (59 %) ПКР. Наиболее часто TGF- $\alpha$  выявляли при папиллярном (100 %) и светлоклеточном вариантах (55,9 %), редко при хромофобном раке (23,1 %). Установлена связь между уровнем экспрессии этого маркера и степенью дифференцировки новообразования ( $p < 0,05$ ). Экспрессия N-кадгерина имела место в 38 наблюдениях (62,3 %), CD133 — в 37 наблюдениях рака почки (60,6 %). Преимущественно N-кадгерин и CD133 выявляли при светлоклеточном и папиллярном вариантах ПКР. Обнаружена связь между экспрессией в опухоли N-кадгерина и ее инвазивным потенциалом ( $p < 0,05$ ). Более высокая частота экспрессии CD133 отмечена у больных с метастатическими формами ПКР, а также при саркоматоидной трансформации опухоли ( $p < 0,05$ ). Экспрессия карбоангидразы IX (CA-IX) отмечена в 35 наблюдениях (57,4 %), при светлоклеточном варианте ПКР. При симптомном ПКР достоверно чаще встречалась экспрессия CA-IX ( $p < 0,05$ ). Выявлена достоверная ассоциация между экспрессией CA-IX и размером опухоли, ее стадией и инвазивным потенциалом.

**Ключевые слова:** почечно-клеточный рак; прогноз; биомаркеры; CD133; N-кадгерин; TGF-альфа, карбоангидраза IX.

## THE FEATURES OF EXPRESSION AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE PEPTIDE MOLECULES CONNECTED WITH THE KEY PROPERTIES OF RENAL CELL CARCINOMA

© D.G. Pasechnik<sup>1</sup>, M.I. Kogan<sup>1</sup>, Z.M. Akhokhov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Rostov State Medical University, Rostov, Russia;

<sup>2</sup>Emergency Aid City Hospital, Taganrog, Russia

For citation: Pasechnik DG, Kogan MI, Akhokhov ZM. The features of expression and prognostic significance of the peptide molecules connected with the key properties of renal cell carcinoma. *Urologicheskie vedomosti*. 2017;7(4):5-16. doi: 10.17816/uroved745-16

Received: 11.10.2017

Accepted: 05.12.2017

**Relevance.** The modern approach to prognostication of the course of renal carcinoma requires identification of the biological markers, which determine the key properties of the tumor in particular cases. *The purpose of this study* is to clarify

the nature of expression of the molecules connected with the phenotype of the cancer stem cell (CD133, N-cadherin), TGF- $\alpha$  growth factor for tubular epithelium, and carboanhydrase IX (CA-IX) – one of the key molecules connected with VHL by the molecular way of carcinogenesis in cases of renal cancer. **Materials and methods.** We studied 61 observations of renal cell carcinoma (RCC). The immunohistochemical examination was based on a panel of antibodies, which included antibodies to TGF- $\alpha$  (Abcam), N-cadgerin (M3613 clone; Dako), CD133 (Prominin-1, Biorbyt), carboanhydrase IX (CAIX; NCL-L-CAIX, Leica Biosystems). The degree of the markers' expression was evaluated by a semiquantitative method depending on the content of the positive-reaction cells in the tumor. The differences between the compared groups were identified through the use of the Mann-Whitney *U* test and the chi-squared test. **Results.** Expression of TGF- $\alpha$  was found in 36 observations (59%) of RCC. TGF- $\alpha$  was most frequently present in the papillary (100%) and the clear-cell (55.9%) versions, and only rarely in chromophobic carcinoma (23.1%). A connection was found between the expression level of this marker and the neoplastic differentiation degree ( $p < 0.05$ ). Expression of N-cadgerin was met in 38 observations (62.3%), CD133 occurred in 37 observations of renal carcinoma (60.6%). N-cadgerin and CD133 were found in the clear-cell and the papillary versions of RCC. There was a connection between the expression of N-cadgerin in the tumor and its invasive potential ( $p < 0.05$ ). A higher occurrence rate of CD133 expression was recorded in the patients with metastatic forms of RCC, and also in cases of sarcomatoid transformation of the tumor ( $p < 0.05$ ). Expression of carboanhydrase IX (CA-IX) occurred in 35 observations (57.4%). It was found in the clear-cell version of RCC. In cases of symptomatic RCC, expression of CA-IX was more frequently met ( $p < 0.05$ ). There was a consistent association between the expression of CA-IX and the tumor size, stage and invasive potential.

⊗ **Keywords:** renal cell carcinoma; prognostication; biomarkers; CD133; N-cadgerin; TGF-alpha; carboanhydrase IX.

В настоящее время почечно-клеточный рак (ПКР) является значимой проблемой урологии. Он составляет 3 % злокачественных новообразований у взрослого населения. Заболеваемость ПКР растет за последние десятилетия в среднем на 3–4 % в год. Возможно, этот рост связан с широким распространением методов прижизненной визуализации почек (УЗИ, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография) [1]. Существующие способы оценки прогноза, учитывающие клинические особенности новообразования, его стадию, степень дифференцировки, гистологические особенности, несмотря на высокую прогностическую способность, не могут с достаточной точностью предсказать течение опухолевого процесса у конкретного пациента, так как не учитывают индивидуальные свойства ПКР. Кроме того, затруднена оценка прогноза при разных стадиях новообразования. В связи с этим современный подход к прогнозированию клинического течения ПКР заключается в поиске биологических маркеров, определяющих ключевые свойства опухоли, такие как повышенная пролиферативная активность, резистентность к апоптозу, способность к инвазии и метастазированию, подавление иммунных реакций [2].

Целью нашей работы было оценить особенности экспрессии молекул, связанных с фенотипом раковой стволовой клетки (CD133, N-кадгерин): TGF- $\alpha$  — фактора роста для эпителия канальцев и карбоангидразы IX (CAIX) — одной из ключевых молекул, связанных с VHL-молекулярным путем канцерогенеза при ПКР.

Материалом для исследования послужило 61 наблюдение ПКР (35 случаев светлоклеточного варианта ПКР, 13 — папиллярного варианта первого типа, 13 — хромофобного варианта ПКР). Для проведения морфологического исследования использовали операционный материал после радикальной нефрэктомии. Фрагменты опухоли фиксировали в 10 % забуференном нейтральном формалине, проводили и заливали в парафин по классической методике. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования использовали панель антител, включающую антитела к TGF- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ , dilution 1 : 100, Abcam, Cambridge, United Kingdom), N-кадгерину (N-Cadherin, клон M3613; dilution 1 : 50, Dako, Glostrup, Denmark), CD133 (Prominin-1 dilution 1 : 200, Biorbyt, Cambridge, United Kingdom), карбоангидразе IX (CAIX; NCL-L-CAIX, dilution 1 : 100, Leica Biosystems, Hamburg, Germany). Выраженность экспрессии маркеров оценивали полуколичественным методом: 0 баллов — отсутствие экспрессии — при отсутствии клеток опухоли в препарате; 1 балл — слабая экспрессия — до 10 % клеток опухоли в препарате; 2 балла — умеренная экспрессия — от 11 до 30 % клеток опухоли в препарате; 3 балла — сильная экспрессия — свыше 30 % опухоли в препарате. Кроме того, учитывали топику позитивной реакции — мембранная, цитоплазматическая или ядерная. Статистическую обработку полу-

ченных параметров проводили с применением пакета прикладных программ Statistica 6.1. Для выявления различий между сравниваемыми группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни, для сравнения бинарных данных — точный критерий Фишера и Хи-квадрат.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 1. TGF-α

TGF-α — мультифункциональный клеточный регуляторный пептид с широким спектром эффектов, связанных с клеточным ростом и дифференцировкой. В почке он является стимулятором пролиферации эпителия проксимальных канальцев. Эффекты TGF-α реализуются через рецепторы к эпидермальному фактору роста [3, 4].

Экспрессия TGF-α встретилась в 36 наблюдениях (59 %) ПКР. Наиболее часто TGF-α выявляли при светлоклеточном раке (55,9 %) (рис. 1–3), папиллярной форме первого типа (100 %) (рис. 4), реже при хромофобном раке (23,1 %) (рис. 5). Преимущественно экспрессия TGF-α определялась в цитоплазме опухолевых клеток (59 %), реже вдоль клеточных мембран (32,8 %). При анализе возможных взаимосвязей между экспрессией TGF-α и клиническими характеристиками ПКР установлено, что пол, возраст, индекс массы тела пациентов, наличие в анамнезе артериальной гипертензии, симптомность ПКР, наличие лабораторных признаков хронической болезни почек не влияли на экспрессию TGF-α.

При анализе экспрессии TGF-α и основных морфологических характеристик ПКР, имеющих прогностическое значение (табл. 1), выявлена

Таблица 1

**Связь между экспрессией TGF-α, морфологическими и прогностическими характеристиками почечно-клеточного рака**

Характеристика	Гистологический тип						Всего	$\chi^2$
	светлоклеточный		папиллярный первый тип		хромофобный			
	нет экспрессии	есть экспрессия	нет экспрессии	есть экспрессия	нет экспрессии	есть экспрессия		
Размер первичной опухоли								
До 4 см	2	3	0	8	3	1	17	
От 4 до 7 см	6	9	0	3	3	2	23	
Свыше 7 см	7	8	0	2	4	0	21	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	2,399 $p > 0,05$
Стадия опухоли (T)								
T1a	2	6	0	8	3	1	20	
T1b	1	1	0	2	1	1	6	
T2	0	0	0	0	1	0	1	
T3a	11	10	0	3	4	1	29	
T3b	1	3	0	0	1	0	5	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	5,083 $p > 0,05$
Инвазия в клетчатку и сосуды почечного синуса, почечную вену и ее ветви								
Есть	11	10	0	3	4	1	29	
Нет	4	10	0	10	6	2	32	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	2,637 $p > 0,05$
Наличие регионарных лимфогенных метастазов								
Есть	1	0	0	0	0	0	1	
Нет	14	20	0	13	10	3	60	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	1,464 $p > 0,05$

Окончание табл. 1

Характеристика	Гистологический тип						Всего	$\chi^2$
	светлоклеточный		папиллярный первый тип		хромофобный			
	нет экспрессии	есть экспрессия	нет экспрессии	есть экспрессия	нет экспрессии	есть экспрессия		
Нет	13	19	0	11	10	3	56	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	0,002 $p > 0,05$
Степень дифференцировки опухоли (ядерный индекс Fuhrman)								
G <sub>1</sub> (ядерный индекс 1–2 балла)	1	6	0	6	1	1	15	
G <sub>2</sub> (ядерный индекс 2–3 балла)	11	11	0	4	8	2	36	
G <sub>3</sub> (ядерный индекс 3–4 балла)	3	3	0	3	1	0	10	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	6,816 $p < 0,05$
Наличие саркоматоидной и рабдоидной трансформации								
Есть	3	3	0	2	1	0	9	
Нет	12	17	0	11	9	3	52	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	0,052 $p > 0,05$
Наличие очагов коагуляционного некроза в опухоли								
Есть	2	1	0	4	1	0	8	
Нет	13	19	0	9	9	3	53	
Итого	15	20	0	13	10	3	61	0,024 $p > 0,05$

связь между наличием в опухоли этого маркера и степенью дифференцировки новообразования ( $\chi^2 = 6,816$ ;  $p < 0,05$ ).

## 2. N-кадгерин

N-кадгерин — это мембранный белок из надсемейства кадгеринов, участвующий в образовании кальцийзависимых межклеточных контактов. Высокий уровень экспрессии этого кадгерина характерен для мезодермы эмбриона. Исследования последних лет указывают на то, что N-кадгерин может быть маркером эпителиально-мезенхимального перехода, определяющим приобретение опухолевыми клетками агрессивных свойств (инвазия и метастазирование) [5].

Экспрессия N-кадгерина встретилась в 38 наблюдениях рака почки (62,3 %). Достоверно часто

N-кадгерин выявляли при светлоклеточном (80 %) ( $p < 0,0001$ ) (рис. 6) и папиллярном вариантах ПКР (76,9 %) ( $p < 0,0001$ ) (рис. 7). При хромофобном раке экспрессия N-кадгерина отсутствовала. Преимущественно N-кадгерин располагался в мембранах клеток (75 %), реже — внутрицитоплазматически (35,4 %). При анализе возможных взаимосвязей между экспрессией N-кадгерина и клинических характеристик ПКР выявлено, что у пациентов с признаками хронической болезни почек до операции (снижение СКФ менее 60) чаще отмечалась экспрессия N-кадгерина ( $\chi^2 = 5,67$ ;  $p < 0,05$ ). При анализе экспрессии N-кадгерина и основных морфологических характеристик ПКР, имеющих прогностическое значение (табл. 2), выявлена связь между наличием в опухоли этого маркера и ее инвазивным потенциалом ( $\chi^2 = 6,486$ ;  $p < 0,05$ ).

Таблица 2

Связь между экспрессией N-кадгерина, морфологическими и прогностическими характеристиками почечно-клеточного рака

Характеристика	Гистологический тип						Всего	$\chi^2$
	светлоклеточный		папиллярный первый тип		хромофобный			
	нет экс-прессии	есть экс-прессия	нет экс-прессии	есть экс-прессия	нет экс-прессии	есть экспрессия		
Размер первичной опухоли								
До 4 см	1	3	3	6	4	0	17	
От 4 до 7 см	3	11	0	3	6	0	23	
Свыше 7 см	3	14	0	1	3	0	21	
Итого	7	28	3	10	13	0	61	3,52 $p > 0,05$
Стадия опухоли (T)								
T1a	1	7	3	5	4	0	20	
T1b	0	1	0	2	1	0	4	
T2	0	0	0	0	0	0	0	
T3a	5	17	0	3	6	0	31	
T3b	1	3	0	0	2	0	6	
Итого	7	28	3	10	13	0	61	1,777 $p > 0,05$
Инвазия в клетчатку и сосуды почечного синуса, почечную вену и ее ветви								
Есть	1	12	0	7	3	0	23	
Нет	6	16	3	3	10	0	38	
Итого	7	28	0	10	13	0	61	6,486 $p < 0,05$
Наличие регионарных лимфогенных метастазов								
Есть	0	1	0	0	0	0	1	
Нет	7	27	3	10	13	0	60	
Итого	7	28	3	10	13	0	61	0,496 $p > 0,05$
Наличие отдаленных лимфогенных и гематогенных метастазов								
Есть	1	3	0	2	0	0	6	
Нет	6	25	3	8	13	0	55	
Итого	7	28	3	10	13	0	61	0,224 $p > 0,05$
Степень дифференцировки опухоли (ядерный индекс Fuhrman)								
G <sub>1</sub> (ядерный индекс 1–2 балла)	1	7	2	4	1	0	15	
G <sub>2</sub> (ядерный индекс 2–3 балла)	6	19	1	3	11	0	40	
G <sub>3</sub> (ядерный индекс 3–4 балла)	0	2	0	3	1	0	6	
Итого	7	28	3	10	13	0	61	2,815 $p > 0,05$
Наличие саркоматоидной и рабдоидной трансформации								
Есть	2	4	0	2	1	0	9	
Нет	5	24	3	8	12	0	52	
Итого	7	28	3	10	13	0	61	0,086 $p > 0,05$
Наличие очагов коагуляционного некроза в опухоли								
Есть	1	2	0	4	1	0	9	
Нет	6	26	3	6	12	0	52	
Итого	7	28	3	10	13	0	61	0,086 $p > 0,05$

### 3. CD133

CD133, или проминин-1, — трансмембранный гликопротеин, который экспрессируется в гемопоэтических стволовых клетках [6]. Последние годы экспрессию этого белка используют для выделения пула так называемых раковых стволовых клеток. Гипоксия и активация HIF-1 $\alpha$  могут индуцировать пролиферацию CD133<sup>+</sup>-клеток. Экспрессия CD133<sup>+</sup> может быть динамичной и меняться в зависимости от состояния микроокружения клеток [7].

Экспрессия CD133 встретилась в 37 наблюдениях рака почки (60,6 %). Наиболее часто CD133 выявляли при светлоклеточном (80 %) (рис. 8, 9) и папиллярном (рис. 10) вариантах ПКР (69,2 %). При хромофобном раке экспрессия CD133 отсутствовала. Для CD133 характерна преимущественно цитоплазматическая экспрессия (60,6 %), реже — мембранная (44,3 %).

При оценке возможных ассоциаций между экспрессией CD133 и клиническими характеристиками опухоли выявлены взаимосвязи с возрастом пациентов ( $\chi^2 = 17,467$ ;  $p < 0,01$ ). Доля пациентов с сильной экспрессией маркера CD133 значительно возрастает у более молодых больных. Средний возраст у больных с сильной экспрессией составляет  $56,3 \pm 5,4$  года, у пациентов с отсутствием экспрессии этого маркера он значимо выше —  $64,8 \pm 2,21$  года ( $p = 0,014$ ). Это распределение совпадает для мембранной и цитоплазматической экспрессии. У пациентов с риском снижения СКФ в раннем послеоперационном периоде также отмечена связь с экспрессией CD133 ( $\chi^2 = 4,155$ ;  $p < 0,05$ ). Выявлена более высокая частота экспрессии CD133 у больных с метастатическими формами ПКР. Кроме того, установлена достоверная связь между выраженностью реакции в опухолевых клетках и саркоматоидной трансформацией ( $\chi^2 = 6,480$ ;  $p < 0,05$ ) (табл. 3).

Таблица 3

**Связь между экспрессией CD133, морфологическими и прогностическими характеристиками почечно-клеточного рака**

Характеристика	Гистологический тип						Всего	$\chi^2$
	светлоклеточный		папиллярный первый тип		хромофобный			
	нет экс-прессии	есть экс-прессия	нет экс-прессии	есть экс-прессия	нет экс-прессии	есть экс-прессия		
Размер первичной опухоли								
До 4 см	1	4	3	5	4	0	17	
От 4 до 7 см	5	10	0	3	5	0	23	
Свыше 7 см	1	14	1	1	4	0	21	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	5,810 $p > 0,05$
Стадия опухоли (T)								
T1a	1	7	3	5	4	0	20	
T1b	0	2	0	2	2	0	6	
T2	0	0	0	0	1	0	1	
T3a	5	16	1	2	6	0	30	
T3b	1	3	0	0	0	0	4	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	0,390 $p > 0,05$
Инвазия в клетчатку и сосуды почечного синуса, почечную вену и ее ветви								
Есть	5	16	1	2	5	0	29	
Нет	2	12	3	7	8	0	32	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	0,046 $p > 0,05$
Наличие регионарных лимфогенных метастазов								
Есть	1	0	0	0	0	0	1	
Нет	6	28	4	9	13	0	60	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	1,567 $p > 0,05$



Окончание табл. 3

Характеристика	Гистологический тип						Всего	$\chi^2$
	светлоклеточный		папиллярный первый тип		хромофобный			
	нет экс-прессии	есть экс-прессия	нет экс-прессии	есть экс-прессия	нет экс-прессии	есть экс-прессия		
Нет	5	28	2	9	13	0	57	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	6,599 $P < 0,05$
Степень дифференцировки опухоли (ядерный индекс Fuhrman)								
G <sub>1</sub> (ядерный индекс 1–2 балла)	1	7	1	5	1	0	15	
G <sub>2</sub> (ядерный индекс 2–3 балла)	5	16	2	2	11	0	36	
G <sub>3</sub> (ядерный индекс 3–4 балла)	1	5	1	2	1	0	10	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	4,431 $p > 0,05$
Наличие саркоматоидной и рабдоидной трансформации								
Есть	1	5	1	1	1	0	9	
Нет	6	23	3	8	12	0	52	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	6,480 $p < 0,05$
Наличие очагов коагуляционного некроза в опухоли								
Есть	1	2	2	2	1	0	8	
Нет	6	26	2	7	12	0	53	
Итого	7	28	4	9	13	0	61	0,438 $p > 0,05$

#### 4. Карбоангидраза IX

Карбоангидраза IX (CA-IX) является HIF-1 $\alpha$ -регулируемым трансмембранным белком, связанным с новообразованиями, агрессивным фенотипом опухоли и неблагоприятным прогнозом при светлоклеточном раке почки [8]. Принято считать, что CA-IX помогает в регулировании внутриклеточного и внеклеточного уровней pH в ответ на гипоксию ткани опухоли.

Экспрессия CA-IX выявлена в 35 наблюдениях (57,4 %), преимущественно при светлоклеточном вари-

анте ПКР (97,1 %) (рис. 11, 12), при хромофобном раке в 1 наблюдении отмечено слабое очаговое окрашивание антителами к CA-IX, при папиллярном раке экспрессия отсутствовала. При симптомном ПКР достоверно чаще встречалась экспрессия CA-IX ( $\chi^2 = 6,213$ ;  $p < 0,05$ ). Выявлена достоверная ассоциация между экспрессией CA-IX и размером опухоли ( $\chi^2 = 7,710$ ;  $p < 0,05$ ), ее стадией ( $\chi^2 = 8,535$ ;  $p < 0,05$ ) и инвазивным потенциалом ( $\chi^2 = 5,111$ ;  $p < 0,05$ ). Связи между степенью дифференцировки новообразования и выраженностью экспрессии установлено не было (табл. 4).

Таблица 4

Связь между экспрессией CA-IX, морфологическими и прогностическими характеристиками почечно-клеточного рака

Характеристика	Гистологический тип						Всего	$\chi^2$
	светлоклеточный		папиллярный первый тип		хромофобный			
	нет экс- прессии	есть экс- прессия	нет экспрес- сии	есть экспрес- сия	нет экс- прессии	есть экс- прессия		
Размер первичной опухоли								
До 4 см	0	5	4	0	8	0	17	
От 4 до 7 см	1	14	3	0	4	1	23	
Свыше 7 см	0	15	6	0	0	0	21	
Итого	1	34	13	0	12	1	61	$\begin{matrix} 7,710 \\ p < 0,05 \end{matrix}$

Окончание табл. 4

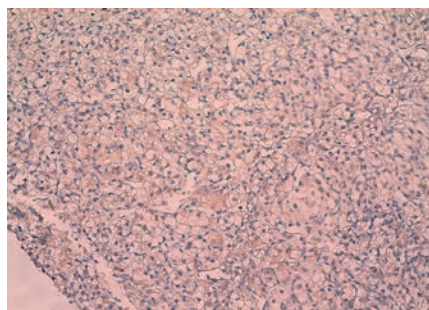
Характеристика	Гистологический тип						Всего	$\chi^2$
	светлоклеточный		папиллярный первый тип		хромофобный			
	нет экс-прессии	есть экс-прессия	нет экспрес-сии	есть экспрес-сия	нет экс-прессии	есть экс-прессия		
T1b	0	2	2	0	2	0	6	
T2	0	0	0	0	1	0	1	
T3a	0	22	3	0	5	1	31	
T3b	1	2	0	0	0	0	3	
Итого	1	34	13	0	12	1	61	8,535 $p < 0,05$
Инвазия в клетчатку и сосуды почечного синуса, почечную вену и ее ветви								
Есть	0	21	3	0	5	0	29	
Нет	1	13	10	0	7	1	32	
Итого	1	34	13	0	12	1	61	5,111 $p < 0,05$
Наличие регионарных лимфогенных метастазов								
Есть	0	1	0	0	0	0	1	
Нет	1	33	13	0	12	1	60	
Итого	1	34	13	0	12	1	61	0,755 $p > 0,05$
Наличие отдаленных лимфогенных и гематогенных метастазов								
Есть	0	3	2	0	0	0	5	
Нет	1	31	11	0	12	1	56	
Итого	1	34	13	0	12	1	61	0,755 $p > 0,05$
Степень дифференцировки опухоли (ядерный индекс Fuhrman)								
G <sub>1</sub> (ядерный индекс 1–2 балла)	0	8	6	0	1	0	15	
G <sub>2</sub> (ядерный индекс 2–3 балла)	1	20	4	0	10	1	36	
G <sub>3</sub> (ядерный индекс 3–4 балла)	0	6	3	0	1	0	10	
Итого	1	34	13	0	12	1	61	0,142 $p > 0,05$
Наличие саркоматоидной и рабдоидной трансформации								
Есть	0	6	2	0	1	0	9	
Нет	1	28	11	0	11	1	52	
Итого	1	34	13	0	12	0	61	0,373 $p > 0,05$
Наличие очагов коагуляционного некроза в опухоли								
Есть	0	3	4	0	1	0	8	
Нет	1	31	9	0	11	1	53	
Итого	1	34	13	0	12	1	61	1,488 $p > 0,05$

## ОБСУЖДЕНИЕ

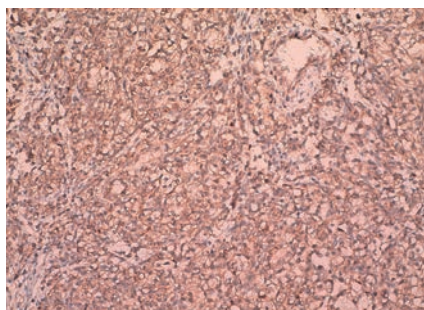
Наше исследование продемонстрировало, что экспрессия TGF- $\alpha$ , N-кадгерина, CD133 и CA-IX отличается при разных гистогенетических формах

ПКР, что отражает особенности молекулярно-биологических путей, лежащих в основе их развития. Так, экспрессия CA-IX присуща только светлоклеточному варианту ПКР, экспрессия N-кадгерина,

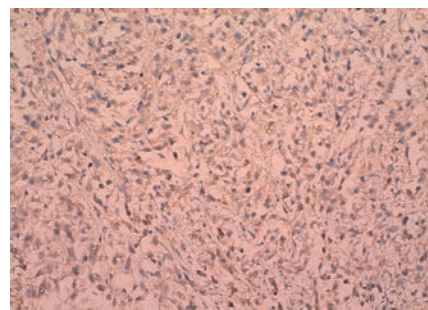




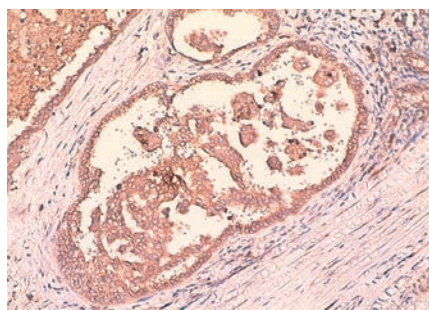
**Рис. 1.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант), ядерный индекс 2. Выраженная очаговая позитивная цитоплазматическая реакция с анти-TGF-α-антителом



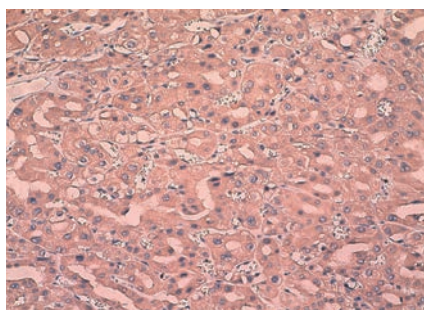
**Рис. 2.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант), ядерный индекс 2–3. Выраженная диффузная позитивная цитоплазматическая реакция с анти-TGF-α-антителом



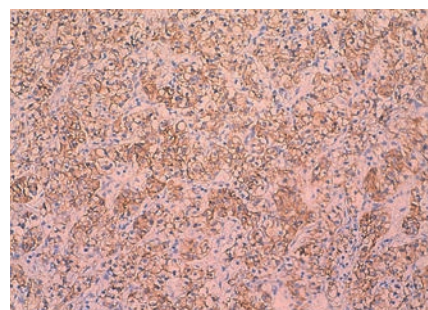
**Рис. 3.** Низкодифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант) с саркоматоидной трансформацией. Выраженная диффузная позитивная цитоплазматическая реакция с анти-TGF-α-антителом



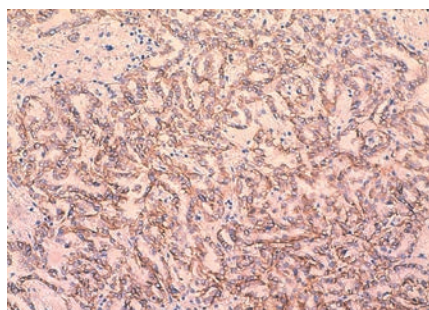
**Рис. 4.** Высокотифференцированный почечно-клеточный рак (папиллярный вариант первого типа). Диффузная позитивная цитоплазматическая и мембранная реакция с анти-TGF-α-антителом



**Рис. 5.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (хромофобный вариант). Очаговая позитивная цитоплазматическая реакция с анти-TGF-α-антителом



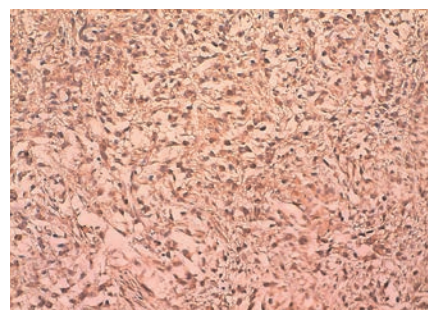
**Рис. 6.** Низко дифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант), ядерный индекс 3. Выраженная диффузная позитивная мембранная реакция с анти-N-кадгерин-антителом



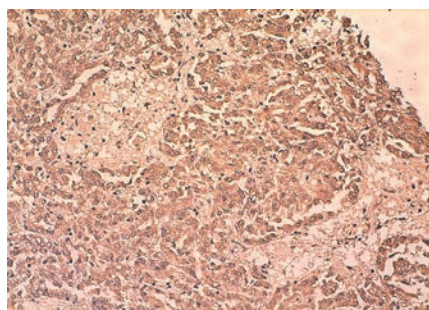
**Рис. 7.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (папиллярный вариант первого типа), ядерный индекс 2. Диффузная позитивная мембранная реакция с анти-N-кадгерин-антителом



**Рис. 8.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант), ядерный индекс 2. Выраженная очаговая позитивная цитоплазматическая реакция с анти-CD133-антителом



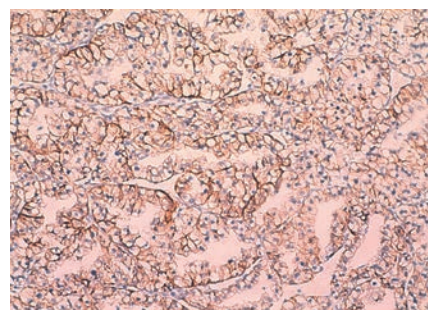
**Рис. 9.** Низко дифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант) с саркоматоидной трансформацией, ядерный индекс 3. Выраженная позитивная цитоплазматическая реакция с анти-CD133-антителом



**Рис. 10.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (папиллярный вариант первого типа), ядерный индекс 2–3. Выраженная позитивная цитоплазматическая реакция с анти-CD133-антителом



**Рис. 11.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант, классическое строение), ядерный индекс 1–2. Выраженная позитивная мембранная реакция с анти-карбоангидраза-IX-антителом



**Рис. 12.** Умеренно дифференцированный почечно-клеточный рак (светлоклеточный вариант, тубулопапиллярное строение), ядерный индекс 1–2. Позитивная мембранная и цитоплазматическая реакция с анти-карбоангидраза-IX-антителом



CD133 характерна для светлоклеточных опухолей и папиллярного варианта ПКР первого типа и отсутствует при хромофобных раках. Наши результаты согласуются с данными литературы. Так, B. Knebelmann et al. (2009) указали, что экспрессию TGF- $\alpha$  может подавлять белок VHL. Ряд исследователей продемонстрировали повышенную экспрессию TGF- $\alpha$  по сравнению с нормальной тканью при светлоклеточном и папиллярном вариантах почечно-клеточного рака [9, 10]. При этом показано, что этот фактор роста — один из вероятных факторов, индуцирующих развитие рака почки уже на ранних стадиях. При хромофобном варианте рака почки отсутствует экспрессия TGF- $\alpha$ , что, возможно, определяет низкий злокачественный потенциал этой формы новообразований и их слабую васкуляризацию [11]. Экспрессия N-кадгерина при светлоклеточном и папиллярном вариантах почечно-клеточного рака описана в работах J. Markovic-Lipkovski et al. (2001), T. Shimazui et al. (2006), C.L. Behnes et al. (2012) [12–14]. Гистогенетическая связь экспрессии этих маркеров с разными вариантами ПКР может позволить использовать их для морфологической дифференциальной диагностики. Кроме того, выявление этих молекул в биологических жидкостях (кровь, моча) может дать возможность проводить скрининг и мониторинг рака почки у пациентов.

Участие исследованных нами молекул в основных молекулярных путях развития и прогрессии ПКР определяет их прогностическое значение. Так, показана роль N-кадгерина в трансэндотелиальной миграции раковых клеток, что является важным этапом в процессе метастазирования [5]. Повышенная экспрессия этого маркера может ассоциироваться с плохим прогнозом течения рака почки [12, 15, 16].

W.H. Costa et al. (2012) выявили, что около 50 % раков почки экспрессировали CD133. Y. Zhang et al. (2013) обнаружили экспрессию CD133 в 21 % случаев почечно-клеточных опухолей. Ряд исследователей указывают, что высокая экспрессия CD133 может быть благоприятным прогностическим фактором [16–19]. Однако G. Feng et al. (2014) отметили высокий риск рецидивирования и развития метастазов у пациентов с повышенным уровнем матричной РНК гена *CD133* в крови [20]. Предполагается, что CD133-позитивные клетки в почечно-клеточном раке поддерживают клеточную популяцию опухоли и служат источником дифференцированных злокачественных клеток [21].

Высокая экспрессия CA-IX связана с благоприятным прогнозом при локализованном и метастатическом ПКР [22]. Было установлено, что уровень экспрессии CA-IX обратно пропорционален риску метастазирования ( $p = 0,036$ ) и высокая экспрессия CA-IX предполагает лучшую выживаемость даже после учета таких факторов, как T-стадия, шкала Fuhrman и общее состояние пациента (все  $p \leq 0,005$ ) [23]. Низкая экспрессия CA-IX ( $\leq 85$  %) ассоциируется с неблагоприятным исходом у больных с метастатическим ПКР (отношение рисков [OR]: 3,10;  $p < 0,001$ ) даже после учета клинических и патологических факторов (OR: 4,76;  $p < 0,001$ ) [24]. A. Ingles et al. (2016) также продемонстрировали, что опухоли со сниженной экспрессией CA-IX имеют худший прогноз (риск рецидивов, канцерспецифическая и общая выживаемость) [25].

Результаты нашего исследования свидетельствуют о прогностическом значении выявления экспрессии TGF- $\alpha$ , N-кадгерина, CD133 и карбоангидразы IX. Нами обнаружена связь между экспрессией TGF- $\alpha$  и степенью дифференцировки опухоли, экспрессией N-кадгерина, CD133, карбоангидразы IX и инвазивным и метастатическим потенциалом опухоли. Это может позволить использовать эти маркеры для индивидуализации прогноза течения новообразования и оценки риска прогрессии рака у конкретного больного.

## ВЫВОДЫ

Экспрессия TGF- $\alpha$  достоверно чаще встречается при папиллярном варианте первого типа и светлоклеточном варианте почечно-клеточного рака по сравнению с хромофобным раком. Выявлена статистически значимая связь между наличием экспрессии TGF- $\alpha$  в опухоли и степенью ее дифференцировки. Экспрессия N-кадгерина достоверно чаще имеет место при папиллярном варианте первого типа и светлоклеточном варианте ПКР и отсутствует при хромофобном раке. Доказана статистически значимая связь между экспрессией N-кадгерина и наличием у пациентов хронической болезни почек стадий 3 и 4. При инвазивных формах ПКР экспрессия N-кадгерина в опухолевых клетках определяется достоверно чаще. Экспрессия CD133 достоверно чаще обнаруживается при папиллярном варианте первого типа и светлоклеточном варианте ПКР и отсутствует при хромофобном раке. CD133-экспрессирующие новообра-

зования достоверно чаще встречаются у пациентов более молодого возраста. У пациентов с риском снижения СКФ в раннем послеоперационном периоде отмечена достоверная связь с экспрессией CD133 в опухоли. При метастатических формах ПКР чаще встречаются CD133-позитивные новообразования. Имеется достоверная связь между выраженностью реакции в опухолевых клетках и саркоматоидной трансформацией. Экспрессия карбоангидразы IX характерна для светлоклеточного варианта ПКР. Установлена достоверная связь между экспрессией опухоли карбоангидразы IX и размером опухоли, ее стадией и инвазивным потенциалом. При симптомном ПКР достоверно чаще отмечена экспрессия карбоангидразы IX.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Chow WH, Devesa SS, Warren JL, Fraumeni JF Jr. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. *JAMA*. 1999;281(17):1628-1631. doi: 10.1001/jama.281.17.1628.
2. Коган М.И., Ахохов З.М., Гусев А.А., Пасечник Д.Г. Молекулярно-биологические факторы прогнозирования течения почечно-клеточного рака (обзор литературы) // Онкоурология. – 2016. – № 3. – С. 45–50. [Kogan MI, Akhokhov ZM, Gusev AA, Pasechnik DG. Biomolecular prognostic factors in renal cell carcinoma: A literature review. *Onkourologiya*. 2016;12(3):45-50. (In Russ.)]. doi: 10.17650/1726-9776-2016-12-3-45-50.
3. de Paulsen N, Brychzy A, Fournier MC, et al. Role of transforming growth factor- $\alpha$  in von Hippel–Lindau (VHL)(-/-) clear cell renal carcinoma cell proliferation: a possible mechanism coupling VHL tumor suppressor inactivation and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98(4):1387-1392. doi: 10.1073/pnas.031587498.
4. Everitt JL, Walker CL, Goldsworthy TW, Wolf DC. Altered expression of transforming growth factor- $\alpha$ : an early event in renal cell carcinoma development. *Mol Carcinog*. 1997;19(3):213-19. doi: 10.1002/(sici)1098-2744(199707)19:3 <213::aid-mc9>3.0.co;2-e.
5. Ramis-Conde I, Chaplain MA, Anderson AR, Drasdo D. Multi-scale modelling of cancer cell intravasation: the role of cadherins in metastasis. *Phys Biol*. 2009;6(1):016008. doi: 10.1088/1478-3975/6/1/016008.
6. Mizrak D, Brittan M, Alison M. CD133: molecule of the moment. *J Pathol*. 2008;214(1):3-9. doi: 10.1002/path.2283.
7. Li Z. CD133: a stem cell biomarker and beyond. *Exp Hematol Oncol*. 2013;2(1):17. doi: 10.1186/2162-3619-2-17.
8. Tostain J, Li G, Gentil-Perret A, Gigante M. Carbonic anhydrase 9 in clear cell renal cell carcinoma: a marker for diagnosis, prognosis and treatment. *Eur J Cancer*. 2010;46(18):3141-3148. doi: 10.1016/j.ejca.2010.07.020.
9. Knebelmann B, Ananth S, Cohen HT, Sukhatme VP. Transforming growth factor  $\alpha$  is a target for the von Hippel-Lindau tumor suppressor. *Cancer Res*. 1998;58(2):226-231.
10. Ramp U, Reinecke P, Gabbert HE, Gerharz CD. Differential response to transforming growth factor (TGF)- $\alpha$  and fibroblast growth factor (FGF) in human renal cell carcinomas of the clear cell and papillary types. *Eur J Cancer*. 2000;36(7):932-941. doi: 10.1016/s0959-8049(00)00030-7.
11. Chudek J, Schullerus D, Wilhelm M, Kovacs G. Lack of interleukin 6 (IL-6) and transforming growth factor  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) expression in chromophobe renal cell carcinomas. *Br J Cancer*. 1998;78(9):1162-1164. doi: 10.1038/bjc.1998.647.
12. Shimazui T, Kojima T, Onozawa M, et al. Expression profile of N-cadherin differs from other classical cadherins as a prognostic marker in renal cell carcinoma. *Oncol Rep*. 2006;15(5):1181-4. doi: 10.3892/or.15.5.1181.
13. Markovic-Lipkovski J, Brasanac D, Müller GA, Müller CA. Cadherins and integrins in renal cell carcinoma: an immunohistochemical study. *Tumori*. 2001;87(3):173-178.
14. Behnes CL, Hemmerlein B, Strauss A, et al. N-cadherin is differentially expressed in histological subtypes of papillary renal cell carcinoma. *Diagn Pathol*. 2012;7:95. doi: 10.1186/1746-1596-7-95.
15. Zhou N, Lu F, Liu C, et al. IL-8 induces the epithelial-mesenchymal transition of renal cell carcinoma cells through the activation of AKT signaling. *Oncol Lett*. 2016;12(3):1915-1920. doi: 10.3892/ol.2016.4900.
16. Conant JL, Peng Z, Evans MF, et al. Sarcomatoid renal cell carcinoma is an example of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Pathol*. 2011;64(12):1088-1092. doi: 10.1136/jclinpath-2011-200216.
17. Costa WH, Rocha RM, Cunha IW, et al. CD133 immunohistochemical expression predicts progression and cancer-related death in renal cell carcinoma. *World J Urol*. 2012;30(4):553-558. doi: 10.1007/s00345-011-0769-x.
18. Cheng B, Yang G, Jiang R, et al. Cancer stem cell markers predict a poor prognosis in renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2016;7(40):65862-65875. doi: 10.18632/oncotarget.11672.
19. Matak D, Szymanski L, Szczylik C, et al. Biology of renal tumour cancer stem cells applied in medicine. *Contemporary Oncology*. 2015;19(1A):A44-A51. doi: 10.5114/wo.2014.47128.
20. Feng G, Jiang F, Pan C, et al. Quantification of peripheral blood CD133 mRNA in identifying metastasis and in predicting recurrence of patients with clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol*. 2014;32(1):44.e9-14. doi: 10.1016/j.urolonc.2013.06.003.
21. Al-Lamki RS, Wang J, Yang J, et al. Tumor necrosis factor receptor 2-signaling in CD133-expressing cells in renal clear cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(17):24111-24124. doi: 10.18632/oncotarget.8125.

22. Zhang BY, Thompson RH, Lohse CM, et al. Carbonic anhydrase IX (CAIX) is not an independent predictor of outcome in patients with clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) after long-term follow-up. *BJU Int.* 2013;111(7):1046-1053. doi: 10.1111/bju.12075.
23. Bui MH, Seligson D, Han KR, et al. Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res.* 2003;9(2):802-11.
24. Phuoc NB, Ehara H, Gotoh T, et al. Prognostic value of the co-expression of carbonic anhydrase IX and vascular endothelial growth factor in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2008;20(3):525-530. doi: 10.3892/or\_00000037.
25. Ingels A, Hew M, Algaba F, et al. Vimentin over-expression and carbonic anhydrase IX under-expression are independent predictors of recurrence, specific and overall survival in non-metastatic clear-cell renal carcinoma: a validation study. *World J Urol.* 2017;35(1):81-87. doi: 10.1007/s00345-016-1854-y.

---

*Сведения об авторах:*

**Дмитрий Геннадьевич Пасечник** — канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии. ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону.

**Михаил Иосифович Коган** — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии. ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону. E-mail: dept\_kogan@mail.ru.

**Залимхан Муаедович Ахохов** — врач-уролог. МБУЗ «Городская больница скорой медицинской помощи», Таганрог. E-mail: dr.ahohov@mail.ru.

---

*Information about the authors:*

**Dmitrij G. Pasechnik** — candidate of medical science, associate professor of department of pathological anatomy. Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

**Mikhail I. Kogan** — professor, doctor of medical sciences, head, department of urology and human reproductive health with a course of pediatric urology-andrology. Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: dept\_kogan@mail.ru.

**Zalimhan M. Akhokhov** — urologist. Emergency Aid City Hospital, Taganrog, Russia. E-mail: dr.ahohov@mail.ru.