

## Ангиогенные факторы при почечно-клеточном раке

М.Ф. Трапезникова, П.А. Глыбин, А.П. Морозов, М.Б. Кылычбеков, Н.Е. Кушлинский  
МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского; ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В настоящее время пристальное внимание исследователей уделяется проблеме неоангиогенеза в злокачественных опухолях, так как уже не вызывает сомнения тот факт, что опухоль не может развиваться и расти без образования в ней разветвленной сети сосудов, обеспечивающих снабжение клеток кислородом и питательными веществами. Известно два механизма образования кровеносных сосудов: васкулогенез и ангиогенез. Васкулогенез — образование сосудистых структур на раннем этапе эмбриогенеза из кровяных островков, состоящих из клеток-предшественников эндотелиоцитов и стволовых клеток гемопоэза, — происходит преимущественно в нормальных физиологических условиях [1]. Ангиогенез — процесс ответвления новых капиллярных отростков от уже существующих кровеносных сосудов.

**Физиологический и опухолевый ангиогенез. «Ангиогенное переключение».** Ангиогенез — это сложный, многоступенчатый процесс формирования новых кровеносных сосудов из предсуществующих. Реализация его связана с серией скоординированных биохимических реакций. В процессе ангиогенеза взаимодействуют в основном компоненты межклеточного матрикса, сывороточные факторы и клетки [2]. Процесс ангиогенеза можно представить рядом следующих этапов [3]:

- 1) активизация эндотелиоцитов и перицитов;
- 2) деградация базальной мембраны и межклеточно-го матрикса, вызываемая увеличением протеолитической активности эндотелиоцитов;
- 3) миграция эндотелиоцитов по направлению к ангиогенному стимулу;
- 4) пролиферация эндотелиоцитов.

Последовательное неоднократное их повторение приводит к образованию новых сосудов.

Ангиогенез наблюдается как во время эмбрионального развития организма, так и у взрослых. Во время эмбриогенеза образование сосудов различных органов может идти по трем вариантам: васкулогенезом, ангиогенезом (головной и спинной мозг, почки) и их комбинацией. Кроме того, ангиогенез участвует в осуществлении ряда важных физиологических процессов у взрослых (так называемый физиологический ангиогенез): заживлении ран, репродуктивном цикле у женщин (созревание фолликула, желтого тела и пролиферация эндометрия во время менструального цикла) и др. Ангиогенез также является важным компонентом широкого спектра заболеваний: атеросклероз, диабетическая ретинопатия, псориаз, ревматоидный артрит, эндометриоз и многие другие [4].

Особый интерес исследователей сконцентрирован на ангиогенезе в злокачественных опухолях, поскольку в настоящее время нет сомнений в том, что рост солидных опухолей более 1—2 мм<sup>3</sup> невозможен без образования разветвленной сети сосудов, обеспечивающих снабжение

клеток кислородом и питательными веществами [5, 6]. Как и нормальная, опухолевая ткань нуждается в адекватном обеспечении кислородом, питательными веществами, а также в выведении продуктов метаболизма [7].

Интерес к этой проблеме возник более 30 лет назад, однако до недавнего времени основной характеристикой активности неоангиогенеза в опухолях являлась микроскопическая оценка плотности сосудов в опухолевой ткани (микрососудистой плотности — MVD). И лишь относительно недавно, в результате изучения молекулярных механизмов ангиогенеза, интенсивно развивавшегося в последние 10—15 лет, было продемонстрировано наличие целого ряда регуляторных ангиогенных и антиангиогенных факторов, динамический баланс которых и обеспечивает формирование и распространение новых сосудов внутри опухоли. Данные условия могут варьировать среди различных типов опухолей, а также существенно меняться в процессе развития опухоли [8]. Классическую модель регуляции опухолевого ангиогенеза можно представить в виде весов, на одной чаше которых расположены проангиогенные факторы, а на другой — антиангиогенные [9].

Индукция «ангиогенного переключения» происходит тогда, когда баланс вышеуказанных факторов сдвигается в сторону проангиогенных. Ангиогенез может быть индуцирован множеством факторов как эндогенной, так и экзогенной природы [6], но каждый ангиогенный фактор занимает свое место в сложном каскаде реакций этого процесса. Экспрессия проангиогенных генов возрастает под влиянием физиологических стимулов, таких как гипоксия, возникающих при нарастании тканевой массы [10].

В регуляции ангиогенеза тем или иным образом участвуют многие известные факторы роста и цитокины: основные и кислые факторы роста фибробластов, эпидермальный фактор роста,  $\alpha$ - и  $\beta$ -трансформирующие факторы роста (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ), тромбоцитарный фактор роста эндотелиальных клеток/тимидинфосфорилаза (PDGF), фактор некроза опухолей, интерлейкины и др. Однако важнейшим положительным регулятором ангиогенеза, бесспорно, является фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF).

Развитие кровеносных и лимфатических сосудов зависит от воздействия членов семейства VEGF и их рецепторов [11, 12]. Все члены семейства VEGF (VEGF-A, -B, -C, -D и плацентарный фактор роста) по своему действию на ткани частично перекрывают друг друга, но независимая экспрессия их генов приводит к развитию различных типов сосудов в тканях.

VEGF-A — это гомодимерный, сильно гликозилированный белок с молекулярной массой 46—48 кДа, существующий, по крайней мере, в пяти изоформах, имеющих сходную биологическую активность, но существенно отличающихся по биологической доступности [13]. Биологиче-

ская доступность VEGF во многом определяется размером молекулы и регулируется на генетическом уровне при альтернативном сплайсинге мРНК, а также эпигенетомно при протеолитическом расщеплении синтезированных молекул с участием системы активации плазминогена. Основные растворимые формы VEGF представляют молекулы размером 121 и 165 аминокислотных остатков, они же являются и основными биологически активными формами. Считается, что в тканях основная изоформа VEGF — это VEGF-165.

На поверхности эндотелиальных клеток имеется три рецептора VEGF, являющихся типичными рецепторными тирозинкиназами. Рецептор VEGFR-1 — продукт гена *flt-1*, рецептор VEGFR-2 получил название KDR и является человеческим гомологом продукта мышинного гена *flk-1*, и, наконец, рецептор 3-го типа — продукт гена *flt-4* и, в отличие от VEGFR-1 и -2, взаимодействует не с классическим VEGF (VEGF-A), а с его гомологом — VEGF-C, обладающим лимфоангиогенной активностью. Все рецепторы представляют собой трансмембранные гликопротеиды с молекулярной массой 170–235 кДа. Для эффективного связывания VEGF с рецепторами необходимо его взаимодействие с гепариноподобными компонентами внеклеточного матрикса.

VEGF-A, первоначально названный цитокином, увеличивающим капиллярную проходимость к плазменным белкам, или фактором проницаемости сосудов (VPF), имеет множество эффектов, направленных на развитие и сохранность сосудистой сети в ткани. К ним относятся индукция пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, защита от апоптоза и старения клеток [14]. Важной ступенью в понимании путей развития рака почки (РП) стало признание VEGF-A как весомого регулятора опухолевого ангиогенеза при этом заболевании [15, 16].

До недавнего времени считалось, что уникальность VEGF заключается в том, что, в отличие от всех других факторов роста, он митогенен только по отношению к эндотелиальным клеткам, однако появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что VEGF играет заметную роль в регуляции роста и выживаемости самих опухолевых клеток. Кроме того, он активирует урокиназу и коллагеназу, в результате чего происходит лизис эндотелиального матрикса, что повышает способность эндотелиальных клеток к миграции, а опухолевых — к инвазии и метастазированию. VEGF-A — самый мощный проангиогенный фактор. Описан его биологический эффект, направленный на развитие неоангиогенеза при многих опухолях, включая почечно-клеточный рак. Его экспрессия, в свою очередь, регулируется многими факторами — это различные цитокины, факторы роста, гормоны и особенно гипоксия [16].

В нормальных физиологических условиях индукция VEGF наблюдается при ишемических состояниях, возникающих в процессе роста органа, когда существующая локальная кровеносная сеть становится неспособной снабжать кислородом и питательными веществами увеличивающуюся массу ткани. В течение эмбрионального васкулогенеза кровеносные сосуды формируются *de novo* из эндотелиальных клеток-предшественников (ангиобластов). [17]. Ранние стадии неоангиогенеза характеризуются вазодилатацией и увеличением проницаемости капилляров и венул

в ответ на VEGF. Это приводит к экстравазации белков плазмы, образующих временный матрикс, к которому устремляются мигрирующие эндотелиальные клетки. Процесс сопровождается ослаблением перичитарного покрытия сосудов [18]. Базальная мембрана сосудов и внеклеточный матрикс значительно ослабляются, позволяя эндотелиальным клеткам мигрировать в периваскулярное пространство в направлении ангиогенных хемотаксических стимулов. Затем мигрировавшие эндотелиальные клетки упорядоченно размножаются, формируя колонки миграции [9]. При нормальном физиологическом ангиогенезе колонки миграции образуют зону дифференцировки, где эндотелиальные клетки меняют форму и адгезируются друг к другу, формируя просвет сосуда. Пролiferация в тканях сосудистой стенки приводит к увеличению диаметра кровеносного сосуда. Присоединяются периваскулярные клетки, и вокруг сформировавшегося кровеносного сосуда образуется базальная мембрана. Ассоциации перичитов редуцируют пролиферацию эндотелиальных клеток и снижают их зависимость от продуцируемого тканью VEGF [19, 20].

В противоположность этому опухоли, охарактеризованные как «раны, которые никогда не заживают» [21], теряют баланс между позитивным и негативным ангиогенным контролем. Особенность опухолевых кровеносных сосудов заключается в том, что они не в состоянии стабилизироваться и имеют тенденцию к бесконечному росту. Следовательно, опухолевая сосудистая сеть имеет уникальные особенности и весьма отличается от нормальной системы кровоснабжения. Кровеносные сосуды опухолей по своей морфологической архитектуре отличаются от нормальных сосудов. Они имеют хаотичное строение, просвет, извилистость и могут слепо заканчиваться. Опухолевые сосуды четко не дифференцируются на артерии, артериолы, капилляры, вены, а скорее имеют их общие признаки [9]. Формирование в опухоли сосудистой сети часто сопровождается кровотечением по причине возникновения дефектов в сосудистых стенках, возникающих в результате гиперпродукции VEGF, проявляющего свои свойства «фактора проницаемости сосудов». Периваскулярные клетки, находящиеся обычно в тесном контакте с эндотелием, в опухолевой ткани связаны с ним менее крепко либо вообще отсутствуют [22, 23]. Неполноценная ассоциация эндотелиальных клеток и перичитов в опухолевой ткани объясняет неадекватность калибра сосудов и их чувствительности к VEGF [22, 24]. Ингибирование или снижение активности VEGF индуцирует апоптоз эндотелиальных клеток, так как он также выполняет функцию фактора выживаемости для эндотелиальных клеток [9].

В случае возникновения необходимости формирования новых сосудов в процессе опухолевого роста, равно как и в нормальных ситуациях у взрослого человека, эндотелиальные клетки-предшественники мобилизуются из костного мозга и, переместившись с кровотоком, встраиваются в состав стенки кровеносного сосуда [25]. Активируются факторы, стимулирующие ангиогенез, такие как VEGF-A, плацентарный фактор роста, и ангиопоэтин и др. [26, 27], но доказано, что один лишь высокий уровень экспрессии VEGF способен инициировать ангиогенез [28].

Опухоль содержит увеличенные уровни VEGF вокруг некритических участков и в гипоксичной ткани, а также в местах создания новых кровеносных сосудов. Большинство клеток чувствительны к гипоксии. Уровень кислорода и питательных веществ в опухолях варьирует в зависимости от их стадии и микросреды, в которой они развиваются. Обычно потребление кислорода в опухолевых клетках снижено в сравнении с клетками нормальных тканей. Опухоли способны адаптировать свой метаболизм, чтобы выжить при низких уровнях кислорода путем увеличения гликолиза, поддерживая продукцию АТФ [29]. Однако любая ткань, включая опухолевую, зависит от адекватного обеспечения кислородом. Если кислорода недостаточно, при помощи фактора, индуцированного гипоксией (HIF), происходит активация генов, позволяющих преодолевать гипоксические состояния [29, 30]. В ткани светлоклеточной опухоли HIF провоцирует гиперэкспрессию проангиогенных белков, таких как VEGF, TGF- $\alpha$  и - $\beta$ , PDGF-B, уровень которых повышается и в нормальной ткани почки при гипоксии. Гиперэкспрессия VEGF, PDGF-B, TGF- $\beta$  активирует расположенные вблизи опухолевой ткани клетки эндотелия для построения новой сосудистой сети. Рост сосудов приводит к увеличению поступления в опухолевую ткань кислорода и питательных веществ, что позволяет опухоли продолжить дальнейшее развитие.

Если ангиогенез необходим для экспансии опухолевых масс, возникает вопрос: является ли это просто необходимостью для преодоления ограничений в размере или это специфическая ступень в развитии опухоли? Опухоль-ассоциированный ангиогенез проходит две стадии, разделенные так называемым ангиогенным переключением [9]. Первая фаза названа аваскулярной, ей соответствуют небольшие новообразования 1–2 мм в диаметре. Дальнейший рост таких образований не происходит, так как пролиферация клеток в них уравновешена апоптозом. Подобные опухоли обнаруживались при вскрытии людей, умерших не от онкологических заболеваний [31]. Из этого также следует, что лишь небольшая часть опухолей входит во вторую фазу — сосудистую, при которой и наблюдается дальнейший рост опухоли. Те же самые ступени применимы и к опухолевым метастазам. Бездействующий метастаз является большой клинической проблемой, поскольку такие метастазы часто активируются после удаления первичной опухоли [32]. С учетом вышесказанного можно предположить, что препятствие «ангиогенному переключению» способно предотвратить прогрессию опухолей и их метастазирование [9].

#### Ангиогенез при РП

Важной ступенью в понимании путей развития РП стало признание VEGF A как главного регулятора опухолевого ангиогенеза. Гиперэкспрессия VEGF, возникающая в результате инактивации опухоль-супрессорного гена von Hippel-Lindau (*VHL*), — явление, наблюдаемое при наиболее часто встречающемся подтипе — светлоклеточном РП, является важнейшим механизмом активации ангиогенеза в опухолевой ткани и, таким образом, представляет собой потенциальную терапевтическую цель, особенно в случае распространенного онкологического процесса. В услови-

ях нормоксии индуктор VEGF HIF- $\alpha$  гидролизуется на два пролиновых фрагмента пролингидроксилазой и один аспарагиновый фрагмент аспарагингидроксилазой. Гидроксилирование пролингидроксилазой позволяет закрепить HIF- $\alpha$  на белке-продукте гена *VHL*, который провоцирует деструкцию HIF- $\alpha$  по протеосомному пути. При отсутствии нормального *VHL* гидроксилированный HIF- $\alpha$  аккумулируется и становится способным к гетеродимеризации с HIF- $\alpha$ , что активирует транскрипцию серии так называемых элементов, индуцируемых гипоксией (HREs), в том числе VEGF. При сравнении статуса биаллельной инактивации *VHL*-гена и уровня экспрессии VEGF в образцах опухолевой ткани пациентов со спорадическим РП показано, что гиперэкспрессия VEGF наблюдалась как при моноаллельной, так и при биаллельной инактивации этого гена [33].

Другая группа ученых [34] исследовала парафиновые блоки опухолевой ткани 70 пациентов, перенесших оперативное лечение по поводу РП. С помощью иммуногистохимического окрашивания антителами к CD-31 была изучена MVD в опухолевой ткани, иммуногистохимически была оценена также экспрессия VEGF. В результате в 50 (74,3%) из 70 образцов обнаружена экспрессия VEGF. Получены достоверные данные о связи MVD с клинической стадией опухоли. Кроме того, уровень MVD коррелировал с экспрессией VEGF, что доказало значимость ангиогенеза в прогрессии опухоли при РП и участие VEGF в этом процессе.

В похожем исследовании [35] сопоставили уровень экспрессии VEGF со средней величиной MVD и другими клинико-патологическими параметрами светлоклеточного РП для определения его прогностического значения. В полученных во время операций 93 образцах светлоклеточного РП было проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF, MVD и пролиферативного индекса Ki-67. Экспрессия VEGF фиксировалась как процент позитивных в этом отношении клеток опухоли (<75% и >75%), различали также диффузную и перимембранную экспрессию VEGF в цитоплазме. Выявлено, что 63 (68%) образца имели менее 75% и 30 (32%) образцов — более 75% экспрессии VEGF. Диффузная цитоплазматическая экспрессия VEGF обнаружена в 61 (66%) образце, а перимембранная — в 32 (34%) образцах. Статистический анализ показал, что для опухолей с уровнем экспрессии VEGF более 75% характерны низкий уровень MVD, более высокий ядерный индекс и более высокий пролиферативный индекс Ki-67 ( $p=0,023$ ). Кроме того, для опухолей с высоким ядерным индексом было характерно диффузное цитоплазматическое распределение VEGF. Таким образом, это исследование не подтвердило прямую зависимость между экспрессией VEGF и уровнем MVD. Кроме того, его результаты показали, что гиперэкспрессия VEGF является очень плохим прогностическим признаком при светлоклеточном РП [36]. При иммуногистохимическом исследовании 45 образцов опухолевой ткани пациентов, прооперированных по поводу РП, также не обнаружили корреляционной взаимосвязи между уровнем экспрессии VEGF и уровнем MVD.

При иммуногистохимическом исследовании различных показателей активности ангиогенеза в опухолевой ткани показано, что светлоклеточный РП с высокой степенью ядерной градации имеет большую ангиогенную активность, чем опухоли с низкой степенью ядерной градации. В частности, в них достоверно повышен уровень экспрессии VEGF [37]. Эта закономерность выявлена и в работе V. Paradis и соавт. [38], исследовавших 74 образца опухолевой ткани почки (62 — светлоклеточный, 12 — папиллярный рак). Они обнаружили также достоверно более высокую частоту экспрессии VEGF в цитоплазме клеток папиллярного рака (67%) по сравнению со светлоклеточным (29%). Наконец, общая выживаемость в группе пациентов с вариантами светлоклеточного рака, экспрессирующего VEGF, была достоверно ниже, чем у больных с опухолями, не содержащими VEGF. Авторы предположили, что уровень экспрессии VEGF может выступать независимым прогностическим фактором наряду со стадией заболевания и степенью ядерной градации.

Большое ретроспективное исследование клинического значения экспрессии VEGF при РП провели J. Jacobsen и соавт. [39]. Они описывают 233 случая почечно-клеточного рака у пациентов, подвергшихся нефрэктомии в период с 1982 по 1997 г. В опухолевой ткани, хранившейся в архиве, осуществлялось определение экспрессии VEGF с помощью моноклональных антител. Наличие VEGF было выявлено на мембранах и в цитоплазме опухолевых клеток, при этом экспрессии VEGF в фиброваскулярной строме опухоли и в эндотелиальных клетках опухолевых сосудов не обнаружено. Продемонстрирована достоверная корреляция между уровнем экспрессии VEGF в опухолевой ткани, стадией заболевания и продолжительностью жизни пациентов. Корреляционная взаимосвязь между уровнем экспрессии VEGF и стадией опухоли обнаружена как при светлоклеточном, так и при папиллярном подтипах РП. Уровень экспрессии VEGF коррелировал с размером опухоли, особенно в случае папиллярного рака. Эти находки указывают на взаимосвязь между экспрессией VEGF, опухолевым ростом и прогрессированием процесса. Однако, в отличие от исследований V. Paradis и соавт. [38] и J. Jacobsen и соавт. [39], полагают, что экспрессия VEGF опухолевой тканью не может служить независимым прогностическим показателем. Также не отмечают достоверных различий между уровнями экспрессии VEGF в различных субтипах почечно-клеточного рака.

Углубленное исследование, направленное на изучение экспрессии различных изоформ VEGF раковой опухоли почки, включавшее 96 пациентов, перенесших нефрэктомии, было проведено этой же группой авторов в 2006 г. [40]. Было показано, что уровень VEGF-189 достоверно выше у пациентов с хромофобным раком. При светлоклеточном раке не отмечено корреляционной связи между опухолями T3b и T3c и уровнями экспрессии опухолевой тканью VEGF-189, VEGF-165 и VEGF-121. Не отмечено никакой связи между уровнями экспрессии VEGF-189 и VEGF-165, степенью ядерной градации и стадией, но уровень VEGF-189 был достоверно ниже при опухолях с инвазией капсулы по сравнению с таковыми без инвазии.

VEGF-121 был зафиксирован чаще при локализованных стадиях опухоли (I, II), чем при распространенных стадиях. В отношении папиллярного рака уровень экспрессии VEGF-189 был ниже при III и IV стадиях, чем в случае локализованных опухолей I и II стадий, а также при наличии капсулярной инвазии. В опухолях со степенью ядерной градации G<sub>3-4</sub> уровень VEGF-189 был значительно ниже, чем в опухолях G<sub>1-2</sub>. Уровень VEGF-165 обратно коррелировал с размером папиллярной опухоли. В целом отмечена взаимосвязь между уровнем экспрессии VEGF-189 и распространенностью опухолевого процесса. Высказано предположение, что при папиллярном РП VEGF-189 может выступать в качестве независимого прогностического фактора: у пациентов с высоким уровнем VEGF-189 отмечен более благоприятный прогноз выживаемости.

Цель исследования В. Ljungberg и соавт. [41] состояла в том, чтобы изучить экспрессию мРНК различных форм VEGF и VEGFR-1 в опухолевой ткани и найти взаимосвязь полученных данных с клинико-патологическими показателями и уровнем VEGF в сыворотке крови больных РП. Папиллярный рак имел достоверно более низкие уровни VEGF-121 и VEGFR-1 по сравнению со светлоклеточным РП. Уровни мРНК VEGF-121 были достоверно ниже в местно-распространенных опухолях, чем в опухолях, ограниченных почкой, и метастатических поражениях. Статистически значимые различия исчезли, когда оценивались только показатели, полученные при исследовании светлоклеточных вариантов РП. Не было обнаружено никакой взаимосвязи между уровнями мРНК VEGF и ядерным индексом. Пациенты с низкими уровнями экспрессии мРНК VEGF-121 имели достоверно больший период выживаемости по сравнению с пациентами, в опухолях которых отмечался высокий уровень мРНК VEGF-121. Обнаружена обратная взаимосвязь между уровнями мРНК VEGF-165 в опухолевой ткани и уровнями VEGF-165 в сыворотке крови.

В работе J. Riket и соавт. [42] уровни общего VEGF были исследованы во фрагментах опухолей 65 пациентов, перенесших оперативное вмешательство по поводу светлоклеточного РП. Оценена также экспрессия VEGFR-1 и VEGFR-2 мРНК в эпителиальных и стромальных клетках опухоли в сравнении с нормальной тканью почки. Выяснилось, что уровни VEGF в цитозолях опухолевой ткани были достоверно выше, чем в неопухолевой ткани почки. Безрецидивная выживаемость была достоверно выше у пациентов с уровнем VEGF в цитозоле ниже пограничного значения (уровень верхнего квартиля). В эпителиальных клетках РП зафиксированы более высокие уровни экспрессии VEGF-121 и VEGFR-1 мРНК, чем в неопухолевой ткани почки. Эти параметры оказались также выше в стромальных клетках РП по сравнению с нормальной почечной тканью. Различий в экспрессии VEGFR-2 в эпителиальных и стромальных клетках опухолевой и неопухолевой ткани почки не выявлено.

D. Minardi и соавт. [43] провели иммуногистохимическое исследование опухолей небольшого размера после выполнения парциальной нефрэктомии. Исследовались VEGF, MVD и VEGFR-2 (FLK-1). Предполагалось оце-

нить прогностическую значимость этих параметров в отношении выживаемости пациентов за длительный период наблюдения. В исследовании участвовало 48 человек в возрасте  $58,2 \pm 9,5$  года с опухолями размером  $2,92 \pm 0,82$  см. Ядерная градация опухолей распределилась следующим образом: 15 человек — G<sub>1</sub>, 29 — G<sub>2</sub>, 2 — G<sub>3</sub> и 2 — G<sub>4</sub>. Средний срок наблюдения составил 93,9 мес (17–186 мес). В итоге 4 (3,9%) пациента, из которых 1 имел РП G<sub>2</sub>, 1 — G<sub>3</sub> и 2 — G<sub>4</sub>, умерли от метастатического РП в среднем через 23,5 мес. Пациенты с уровнем MVD выше медианы (44,4 сосудов/мм<sup>2</sup>) не имели достоверного различия в выживаемости с пациентами с уровнем MVD ниже медианы. Пациенты с уровнем экспрессии VEGF в гистологическом образце выше 25% демонстрировали худшую выживаемость, чем пациенты, у которых экспрессия VEGF была ниже 25%. Экспрессия VEGFR-2 не влияла на выживаемость. MVD, экспрессия VEGF и VEGFR-2 не зависели от размера опухоли при РП в пределах pT1a. Таким образом, при РП с маленьким размером опухоли только ядерная градация оказалась прогностическим значимым фактором в отношении выживаемости.

Опубликовано также несколько исследований, в которых оценено клиническое значение содержания ангиогенных факторов в периферической крови при РП. Так, К. Sato и соавт. [44] иммуноферментным методом определили уровень VEGF в образцах периферической крови 40 пациентов, страдающих РП, и 40 практически здоровых лиц. У 20 пациентов сыворотка также была получена из билатеральных почечных вен. У 11 пациентов уровень VEGF был измерен до нефрэктомии, а также спустя 4 и 8 нед после операции. Получены достоверные различия уровня VEGF между больными РП и группой контроля ( $207,3 \pm 32,9$  и  $71,5 \pm 9,1$  пг/мл соответственно). Уровень VEGF сыворотки, полученной из вен почек, пораженных опухолью, достоверно отличался от уровня VEGF сыворотки, полученной из контралатеральных почек. Кроме того, уровень VEGF в сыворотке достоверно менялся после нефрэктомии. Уровень VEGF в сыворотке зависел от различных показателей стадии процесса, таких как объем опухоли, наличие метастазов. Исследователи установили, что при уровне сывороточного VEGF выше 100 пг/мл чувствительность этого теста при РП составляет 80%, а специфичность — 72,7%, поэтому они предположили, что сывороточный VEGF может рассматриваться в качестве возможного маркера РП.

С целью выяснения, может ли уровень VEGF-165 в сыворотке крови являться прогностическим фактором при РП, J. Jacobsen и соавт. [45] сравнивали этот показатель с клинико-патологическими данными и клиническим исходом у 164 больных. Уровень VEGF-165 в сыворотке крови оказался достоверно выше у больных РП (медиана 343,4 пг/мл) по сравнению с контрольной группой (медиана 103,8 пг/мл). Уровень VEGF сыворотки корре-

лировал со стадией заболевания и степенью гистологической градации. Пациенты с уровнями VEGF-165 ниже среднего значения имели достоверно более длительный период выживаемости, чем пациенты, у которых уровень VEGF-165 был выше этого уровня. Значение VEGF-165 для прогноза выживаемости было особенно выражено у пациентов с опухолью, имеющей венную инвазию (pT3b—cN0M0), и у пациентов с клиническими стадиями I—III. Но при многофакторном анализе установлено, что только стадия опухоли и ядерная градация являются независимыми прогностическими параметрами. Хотя, по данным этого исследования, VEGF не является независимым прогностическим параметром, авторы полагают, что определение уровня VEGF-165 в сыворотке крови может быть полезным для идентификации пациентов с потенциально быстрым прогрессированием заболевания, особенно у больных с инвазией нижней полой вены.

F.I. Alamdari и соавт. [46] исследовали образцы сыворотки крови 120 больных метастатическим РП, которым выполнили радикальную нефрэктомию. Различные клинико-патологические параметры, уровни VEGF, VEGFR-1, основного фактора роста фибробластов и эритропоэтина в сыворотке были сопоставлены с клиническим течением. Средний период выживаемости пациентов составил 9 мес. В послеоперационном периоде умерли 6 (5%) больных, но все они имели низкие показатели качества жизни — индекс Карновского (ИК) от 2 до 3. Ни один из ангиогенных факторов не проявил прогностической значимости, за исключением того, что VEGF был связан с выживаемостью у пациентов с хорошим ИК. После проведения многофакторного анализа данных стало ясно, что только ИК, количество метастатических участков и инвазия капсулы являются независимыми факторами прогноза выживаемости.

L. Schrips и соавт. [47], зафиксировавшие статистически достоверное превышение уровня VEGF в сыворотке крови больных РП по сравнению с контрольной группой, тем не менее также отвергают прогностическую значимость уровня VEGF сыворотки крови при РП, полагая при этом, что только стадия и степень ядерной градации являются независимыми факторами прогноза выживаемости.

С учетом вышесказанного следует предположить, что VEGF играет важную роль в развитии онкологического процесса при почечно-клеточном раке, однако противоречивость представленных в литературе результатов изучения его клинической значимости диктует необходимость проведения дополнительных масштабных проспективных исследований, направленных на изучение прогностической значимости уровня VEGF и его рецепторов в физиологических жидкостях и тканях больных РП. Это способствовало бы разработке новых методов для раннего выявления заболевания, изменению принципов подхода к лечению пациентов, страдающих РП, позволило бы проводить более точное прогнозирование.

### Литература

1. Noden D.M. Embryonic origins and assembly of blood vessels. *Am Rev Respir Dis* 1989;140(4):1097—103.
2. Furcht L.T. Critical factors controlling angiogenesis: cell products, cell matrix, and growth factors. *Lab Invest* 1986;55(5):505—9.
3. Bischoff J. Cell adhesion and angiogenesis. *J Clin Invest* 1995;99(3):373—6.
4. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vas-

- cular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995;1(1):27—31.
5. Folkman J. Antiangiogenesis: new concept for therapy of solid tumors. *Ann Surg* 1972;175(3):409—16.
6. Folkman J., Klagsburn M. Angiogenic factors. *Science* 1987;235:442—7.
7. Papetti M., Herman I.M. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;282(5): 947—70.
8. Hlatky L., Hahnfeldt P., Folkman J. Clinical application of antiangiogenic therapy: microvessel density, what it does and doesn't tell us. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(12):883—93.
9. Bergers G., Benjamin L.E. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* 2003;3(6):401—10.
10. Dor Y., Porat R., Keshet E. Vascular endothelial growth factor and vascular adjustments to perturbations in oxygen homeostasis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280(6):1367—74.
11. Dvorak H.F. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002;20:4368—80.
12. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669—76.
13. Ferrara N. The role of vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis. *Breast Cancer Res Treat* 1995;36(2):127—37.
14. Ferrara N., Keyt B. Vascular endothelial growth factor: basic biology and clinical implications. *EXS* 1997;79:209—32.
15. Ferrara N., Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997;18:4—25.
16. 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;23:1028—43.
17. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000;6:389—95.
18. Holash J., Maisonpierre P.C., Compton D. et al. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science* 1999;284:1994—8.
19. Hirschi K.K., D'Amore P.A. Pericytes in the microvasculature. *Cardiovasc Res* 1996;32:687—98.
20. Benjamin L.E., Hemo I., Keshet E. A plasticity window for blood vessel remodeling is defined by pericyte coverage of the preformed endothelial network and is regulated by PDGF-B and VEGF. *Development* 1998;125:1591—8.
21. Dvorak H.F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986;315:1650—9.
22. Benjamin L.E., Golijanin D., Itin A. et al. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J Clin Invest* 1999;103:159—65.
23. Morikawa S., Baluk P., Kaidoh T. et al. Abnormalities in pericytes on blood vessels and endothelial sprouts in tumors. *Am J Pathol* 2002;160:985—1000.
24. Benjamin L.E., Keshet E. Conditional switching of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumors: induction of endothelial cell shedding and regression of hemangioblastoma-like vessels by VEGF withdrawal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:8761—6.
25. Rafii S., Heissig B., Hattori K. Efficient mobilization and recruitment of marrow-derived endothelial and hematopoietic stem cells by adenoviral vectors expressing angiogenic factors. *Gene Ther* 2002;9:631—41.
26. Hattori K., Dias S., Heissig B. et al. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 2001;193:1005—14.
27. Hattori K., Heissig B., Wu Y. et al. Placental growth factor reconstitutes hematopoiesis by recruiting VEGFR1(+) stem cells from bone-marrow microenvironment. *Nat Med* 2002;8:841—9.
28. Pettersson A., Nagy J.A., Brown L.F. et al. Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Lab Invest* 2000;80:99—115.
29. Semenza G.L. HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics. *Trends Mol Med* 2002;8:S62—S67.
30. Maxwell P.H., Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Activation of the HIF pathway in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2001;11:293—9.
31. Black W.C., Welch H.G. Advances in diagnostic imaging and overestimations of disease prevalence and the benefits of therapy. *N Engl J Med* 1993;328:1237—43.
32. Kerbel R., Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nature Rev Cancer* 2002;2:727—39.
33. Igarashi H., Esumi M., Ishida H. et al. Vascular endothelial growth factor overexpression is correlated with von Hippel-Lindau tumor suppressor gene inactivation in patients with sporadic renal cell carcinoma. *Cancer* 2002;95(1):47—53.
34. Zhang X., Yamashita M., Uetsuki H. et al. Angiogenesis in renal cell carcinoma: Evaluation of microvessel density, vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinases. *Int J Urol* 2002;9(Issue 9):509—14.
35. Djordjevic G., Mozetic V., Mozetic D.V. et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in clear cell renal cell carcinoma. *Pathol Res Pract* 2007;203(2):99—106.
36. Raica M., Cimpean A.M., Anghel A. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) does not correlate with microvessel density in renal cell carcinoma. *Neoplasma* 2007;54(4):278—84.
37. Baldewijns M.M., Thijssen V.L., Van den Eynden G.G. et al. High-grade clear cell renal cell carcinoma has a higher angiogenic activity than low-grade renal cell carcinoma based on histomorphological quantification and qRT-PCR mRNA expression profile. *Br J Cancer* 2007;96(12):1888—95.
38. Paradis V., Lagha N.B., Zeimoura L. et al. Expression of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinomas. *Virchows Arch* 2000;436:351—6.
39. Jacobsen J., Grankvist K., Rasmuson T. et al. Expression of vascular endothelial growth factor protein in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2004;93:297—302.
40. Jacobsen J., Grankvist K., Rasmuson T. et al. Different isoform patterns for vascular endothelial growth factor between clear cell and papillary renal cell carcinoma. *BJU Int* 2006;97(5):1102—108.
41. Ljungberg B., Jacobsen J., Häggström-Rudolfsson S. et al. Tumour vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA in relation to serum VEGF protein levels and tumour progression in human renal cell carcinoma. *Urol Res* 2003;31(5):335—40.
42. Rivet J., Mourah S., Murata H. et al. VEGF and VEGFR-1 are coexpressed by epithelial and stromal cells of renal cell carcinoma. *Cancer* 2008;112(2):433—42.
43. Minardi D., Lucarini G., Mazzucchelli R. et al. Prognostic role of Fuhrman grade and vascular endothelial growth factor in pT1a clear cell carcinoma in partial nephrectomy specimens. *J Urology* 2005;174(Issue 4):1208—12.
44. Sato K., Tsuchiya N., Sasaki R. et al. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with renal cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1999;90(8):874—9.
45. Jacobsen J., Rasmuson T., Grankvist K. et al. Vascular endothelial growth factor as prognostic factor in renal cell carcinoma. *J Urol* 2000;163(1):343—7.
46. Alamdari F.I., Rasmuson T., Grankvist K. et al. Angiogenesis and other markers for prediction of survival in metastatic renal cell carcinoma. *Scand J Urol Nephrol* 2007;41(1):5—9.
47. Schips L., Dalpiaz O., Lipsky K. et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and endostatin in renal cell carcinoma patients compared to a control group. *Eur J Urol* 2007;51(1):168—73.