



Оригинальная статья

Ключевые компоненты сигнальной системы VEGF и матриксные металлопротеиназы в диагностике и прогнозе общей выживаемости больных почечно-клеточным раком

Кушлинский Н.Е.¹ • Герштейн Е.С.¹ • Колпаков А.В.² • Бежанова С.Д.¹ • Муштенко В.В.² • Короткова Е.А.¹ • Пушкарь Д.Ю.² • Базаев В.В.³

Обоснование. Изучение и поиск новых молекулярных маркеров рака почки, в первую очередь, показателей, связанных с ангиогенной и инвазивной активностью, по-прежнему актуальны. В наших предыдущих работах мы оценили потенциальное диагностическое значение матриксных металлопротеиназ (ММП)-2, 7, 8, 9, их тканевого ингибитора 1-го типа (ТИМП-1) и компонентов сигнальной системы VEGF при раке почки. **Цель** – исследование роли VEGF, VEGFR1, VEGFR2, ММП-2, 7, 8, 9 и ТИМП-1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком в диагностике и прогнозе общей выживаемости. **Материал и методы.** Обследовано 99 больных почечно-клеточным раком (94 первичных и 5 – на фоне прогрессирования). В контрольную группу вошли 97 здоровых доноров. На протяжении от 1 до 45 (медиана – 26) месяцев для оценки общей выживаемости прослежены 93 первичных больных почечно-клеточным раком. Концентрацию исследуемых белков в сыворотке крови определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа (Quantikine®, R&D Systems, США). **Результаты.** Содержание VEGF, VEGFR1, VEGFR2, ММП-7, ММП-8 и ТИМП-1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком статистически значимо повышено по

сравнению с контролем. Диагностические характеристики маркеров существенно различались, при этом наиболее значимым маркером с диагностической чувствительностью 84% при 87,5% специфичности оказалась ММП-7. Концентрации VEGFR1, ММП-7, ММП-8 и ТИМП-1 положительно коррелировали со стадией заболевания и показателями системы TNM, а уровни ММП-7 и ТИМП-1 возрастали по мере уменьшения степени дифференцировки опухоли. ММП-7 была значимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости пациентов: 3-летняя выживаемость при низком (<6,3 нг/мл) уровне маркера составила 93%, при высоком – 51% ($p < 0,001$). Прогностическое значение ММП-7 сохранялось и при I стадии рака почки: при 3-летнем сроке наблюдения были живы все пациенты с низким уровнем маркера, тогда как выживаемость больных с высоким уровнем ММП-7 составила 72% ($p = 0,02$). Неблагоприятное прогностическое значение в общей группе больных раком почки имел также повышенный (>51 нг/мл) уровень ММП-8 в сыворотке крови: 3-летняя выживаемость при низком и высоком уровнях маркера составила 78 и 58% соответственно ($p < 0,01$). Достоверного прогностического значения компонентов сигнальной системы VEGF, ММП-2,

ММП-9 и ТИМП-1 не выявлено. **Заключение.** Наиболее перспективным диагностическим и прогностическим маркером почечно-клеточного рака следует считать ММП-7. VEGF и растворимые формы его рецепторов могут быть полезны для мониторинга больных раком почки, получающих антиангиогенные препараты, и предсказания чувствительности к такому лечению.

Ключевые слова: рак почки, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, матриксные металлопротеиназы 2, 7, 8, 9, тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1-го типа, сыворотка крови, диагностические характеристики, прогноз

Для цитирования: Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Колпаков А.В., Бежанова С.Д., Муштенко В.В., Короткова Е.А., Пушкарь Д.Ю., Базаев В.В. Ключевые компоненты сигнальной системы VEGF и матриксные металлопротеиназы в диагностике и прогнозе общей выживаемости больных почечно-клеточным раком. Альманах клинической медицины. 2020;48(2):78–83. doi: 10.18786/2072-0505-2020-48-012.

Поступила 14.08.2019; доработана 11.01.2020; принята к публикации 13.01.2020; опубликована онлайн 27.03.2020

Рак почки занимает третье место среди опухолей мочеполовой системы. Долгое практически бессимптомное течение приводит к поздней диагностике и, как следствие, высокой смертности от этого заболевания. Около 40% пациентов на момент установления диагноза имеют либо большую первичную опухоль, либо отдаленные метастазы, а у 30% больных с локализованным почечно-клеточным

раком после хирургического удаления первичной опухоли развиваются отдаленные метастазы. Возможности терапевтического лечения опухолей почки до недавнего времени были ограничены их низкой чувствительностью к стандартной химио- и лучевой терапии, а достигнутые в последние годы успехи в лечении рака почки, в первую очередь, его светлого-клеточного варианта, связаны с использованием антиангиогенных



препаратов, ингибирующих активность рецепторов (R) фактора роста эндотелия сосудов (англ. vascular endothelial growth factor – VEGF) и некоторых других факторов роста, вовлеченных в процесс ангиогенеза [1].

Наряду с активацией процессов ангиогенеза в злокачественных опухолях различного гистогенеза обнаружено увеличение экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов (ТИМП) [2]. При этом активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы. Тканевая экспрессия отдельных ММП, ТИМП и показателей системы VEGF/VEGFR имеет диагностическое и прогностическое значение при некоторых типах опухолей. Проводятся также исследования клинического значения компонентов сигнальной системы VEGF и ММП/ТИМП, циркулирующих в периферической крови, однако их результаты пока неоднозначны [3–10].

Цель настоящего исследования – анализ роли основных компонентов сигнальной системы VEGF (VEGF, VEGFR1, VEGFR2), ММП-2, 7, 8, 9 и ТИМП-1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком в диагностике и оценке прогноза общей выживаемости.

Материал и методы

В открытое проспективное когортное наблюдательное исследование включено 99 больных почечно-клеточным раком (58 мужчин и 41 женщина; возраст от 29 лет до 81 года, медиана – 59 лет), проходивших обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в 2015 г. Из них 94 больных раком почки обследованы при первичном поступлении и 5 – на фоне прогрессирования заболевания. Диагноз у всех пациентов подтвержден результатами планового гистологического исследования и последующего пересмотра препаратов. Гистологические варианты почечно-клеточного рака и доброкачественных новообразований почки выделяли согласно международной классификации Всемирной организации здравоохранения (2016) [11]. При этом I стадия заболевания

Кушлинский Николай Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 324 11 79. E-mail: biochimia@yandex.ru

Герштейн Елена Сергеевна – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3321-801X>. E-mail: esgershtein@gmail.com

Колпаков Андрей Владимирович – соискатель кафедры урологии²

Бежанова Светлана Дмитриевна – аспирант отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7336-9210>

Муштенко Владимир Владимирович – соискатель кафедры урологии²

Короткова Екатерина Андреевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2509-5232>. E-mail: katinka-kor@ya.ru

Пушкарь Дмитрий Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой урологии²

Базаев Владимир Викторович – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотр. отделения урологии³

выявлена у 53, II – у 10, III – у 15, IV – у 16 больных. В контрольную группу вошли 30 практически здоровых мужчин и 67 женщин в возрасте от 18 до 77 лет, медиана – 42 года.

Для оценки общей выживаемости прослежены 93 первичных больных почечно-клеточным раком на протяжении от 1 до 45 (медиана – 26) месяцев. Из анализа исключены пациенты, смерть которых не была связана с основным заболеванием.

Исследование выполнено согласно требованиям комиссии по этике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и в соответствии с этическими принципами проведения биомедицинских исследований, отраженными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Концентрацию VEGF, VEGFR1, VEGFR2, ММП-2, 7, 8, 9 и ТИМП-1 в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа: Human VEGF Immunoassay, Human VEGFR1 Immunoassay, Human VEGFR2 Immunoassay, Total MMP-2 Immunoassay, Human MMP-7 Immunoassay, Human MMP-8 Immunoassay, Human MMP-9 Immunoassay, Human TIMP-1 Immunoassay (Quantikine®, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc). При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. Выживаемость пациентов оценивали методом Каплана – Мейера, а также с помощью регрессионной многофакторной модели Кокса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В таблице представлены показатели медианы, верхнего и нижнего квартилей.

Результаты и обсуждение

На первом этапе анализа, результаты которого были детально представлены нами в работах [3, 4], оценили потенциальное диагностическое значение исследуемых ММП, ТИМП-1 и компонентов

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России; 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1, Российская Федерация

³ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация



Содержание компонентов сигнальной системы VEGF и матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови больных раком почки и в контроле [3, 4]

Обследованные группы	N	VEGF, пг/мл	VEGFR1, пг/мл	VEGFR2, нг/мл	ММП-2, нг/мл	ММП-7, нг/мл	ММП-8, нг/мл	ММП-9, нг/мл	ТИМП-1, нг/мл
Больные первичным почечно-клеточным раком (группа 1)	94	510 285–857	104 80,5–131	13,4 9–16,9	402 334–602	6,3 3,6–10	51,4 33,2–70,4	876 704–1090	351 300–432
Больные почечно-клеточным раком на фоне прогрессирования (группа 2)	5	524 430–562	131 111–138	12,2 12,1–13	417 336–504	14,2 5,65–16,7	61,6 60,7–84	1010 847–1022	445 392–522
Контроль (К)	97	272 179–423	83 54,1–112	10,6 8,3–13,6	453 348–545	2,21 1,71–2,66	35,9 24,9–63	967 756–1271	296 232–386
p		p _{1-к} <0,001	p _{1-к} <0,01 p _{2-к} <0,05	p _{1-к} <0,01	> 0,1	p _{1-к} <0,001 p _{2-к} <0,001	p _{1-к} <0,05	> 0,1	p _{1-к} <0,001 p _{2-к} <0,001

N – число пациентов, ММП – матриксная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа

Данные представлены в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3)

сигнальной системы VEGF, сопоставив их уровни у больных раком почки с показателями здоровых доноров. Обобщенные данные этих публикаций отражены в таблице, поскольку они стали основой для выбора пороговых уровней при оценке прогностического значения данных маркеров.

Ранее установлено, что содержание всех компонентов сигнальной системы VEGF в сыворотке крови первичных больных раком почки статистически значимо повышено по сравнению с контролем. Наиболее выраженное увеличение сывороточной концентрации обнаружено для VEGF. Наилучшие показатели чувствительности (67%) и специфичности (70%) отмечены при пороговом значении данного маркера 365 пг/мл [4]. На основании проведенного исследования показано, что компоненты VEGF/VEGFR сигнальной системы не обладали значимой диагностической чувствительностью и специфичностью, однако они могут быть полезны для мониторинга пациентов, получающих антиангиогенные препараты, а также для предсказания чувствительности к такому лечению [12].

При исследовании представителей семейства ММП отмечено, что содержание ММП-7, ММП-8 и ТИМП-1 в сыворотке крови больных раком почки статистически значимо повышено по сравнению с контролем. Сывороточные уровни ММП-2 и ММП-9 в обследованных группах не различались. При пороговом уровне ММП-7, равном 3,0 нг/мл, полученном на основе кривой ROC, диагностическая чувствительность выявления первичного рака почки составила 84%, специфичность по отношению к «здоровому» контролю – 87,5%. Эти диагностические

характеристики совпадают с опубликованными данными С. Niedworok и соавт. [9], получивших 70% специфичность и 82% чувствительность этого теста при пограничном уровне ММП-7 в плазме крови, равном 3,15 нг/мл, а также с данными А. Ramankulov и соавт. [8], показавших, что оптимальный пороговый уровень ММП-7 в плазме крови составляет 2,47 нг/мл, при этом чувствительность и специфичность теста равны соответственно 76 и 72%. Для ТИМП-1 наилучшее соотношение чувствительности (67%) и специфичности (65%) отмечено при пороговом уровне 315 нг/мл. Построение кривой ROC не выявило порогового уровня ММП-8, обеспечивающего приемлемое соотношение чувствительности и специфичности.

Для оценки прогностической значимости исследованных маркеров проанализировали показатели общей выживаемости 93 первичных больных почечно-клеточным раком, прослеженных на протяжении от 1 до 45 (медиана – 26) месяцев. За этот период от прогрессирования основного заболевания в сроки от 1 до 36 месяцев умерли 17 (18%) больных, 76 пациентов живы на момент последнего контакта. Медиана продолжительности жизни умерших пациентов составила 14 месяцев. В качестве пограничных значений для оценки выживаемости методом Каплана – Мейера были приняты показатели медианных уровней исследованных маркеров в общей группе пациентов: 402 нг/мл – для ММП-2; 6,3 нг/мл – для ММП-7; 51 нг/мл – для ММП-8; 876 нг/мл – для ММП-9; 350 нг/мл – для ТИМП-1; 510 пг/мл – для VEGF; 104 пг/мл – для VEGFR1 и 13,4 нг/мл – для VEGFR2.



При однофакторном анализе методом Каплана – Мейера факторами неблагоприятно прогноза в общей группе больных раком почки оказались высокие уровни ММП-7 и ММП-8 в сыворотке крови. Более значимые различия выявлены для ММП-7: 3-летняя выживаемость при низком уровне маркера составила 93%, при высоком – всего 51% (рис. 1; $p < 0,001$). Для ММП-8 эти показатели равны 78 и 58% соответственно (рис. 2; $p < 0,01$). Отмечены также тенденции к ухудшению общей выживаемости при высоком уровне VEGF ($p = 0,054$), VEGFR1 ($p = 0,057$) и ТИМП-1 ($p = 0,056$). Максимальные различия для этих маркеров отметили при 2-летнем сроке наблюдения, показатели составили 11, 14 и 17% соответственно. Уровни ММП-9, ММП-2 и VEGFR2 в сыворотке крови не связаны с показателями общей выживаемости больных раком почки.

Поскольку уровни ММП-7 и ММП-8 тесно связаны с распространенностью почечно-клеточного рака, их влияние на выживаемость пациентов в общей группе может быть следствием данной закономерности. В этой связи мы отдельно проанализировали больных с I стадией. Оказалось, что и у этих пациентов прогностическое значение ММП-7 сохраняется: при 3-летнем сроке наблюдения были живы все пациенты с низким уровнем маркера, а выживаемость больных с уровнем ММП-7 $> 6,3$ нг/мл составила 72% (рис. 3; $p = 0,02$). Уровень ММП-8 не был статистически значимым связан с общей выживаемостью пациентов с I стадией рака почки.

При многофакторном анализе, включавшем основные клинические и морфологические факторы прогноза (стадию, показатели системы

TNM, гистологическое строение и степень дифференцировки опухоли), а также уровни исследованных маркеров в сыворотке крови, статистически значимых независимых прогностических факторов не выявлено.

Заключение

В сыворотке крови больных раком почки выявлено значительное повышение концентрации VEGF, VEGFR1, VEGFR2, а также статистически значимое увеличение содержания ММП-7, ММП-8 и ТИМП-1. При этом наиболее перспективным серологическим маркером рака почки следует считать ММП-7, который не только имеет потенциальное диагностическое значение, но и является значимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных почечно-клеточным раком, в том числе и при I стадии заболевания.

Следует отметить, что уровень ММП-7 в периферической крови повышается и имеет прогностическое значение не только при раке почки, но и при некоторых других злокачественных новообразованиях [6, 10, 13, 14], что указывает на универсальный характер этих изменений и может быть обусловлено тем, что ММП-7 – единственный представитель данного семейства, который секретируется преимущественно опухолевыми, а не стромальными клетками. Универсальность повышения ММП-7 в сыворотке и плазме крови при опухолях различного гистогенеза не позволяет рекомендовать ММП-7 в качестве специфического диагностического маркера. Вместе с тем этот маркер может быть полезен для мониторинга эффекта лечения и выявления рецидива у больных с исходно повышенным его уровнем.

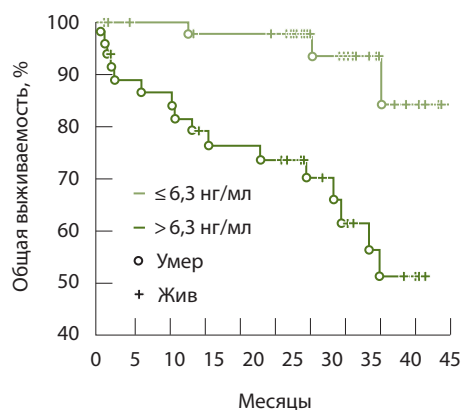


Рис. 1. Общая выживаемость больных раком почки в зависимости от содержания ММП-7 в сыворотке крови

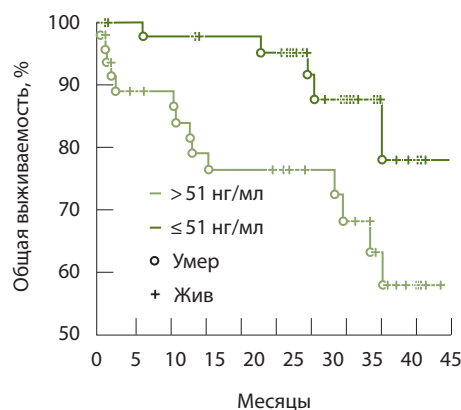


Рис. 2. Общая выживаемость больных раком почки в зависимости от содержания ММП-8 в сыворотке крови

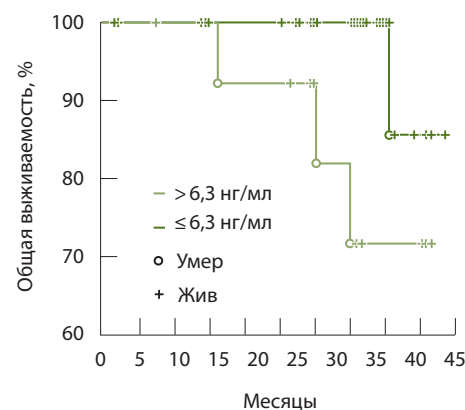


Рис. 3. Общая выживаемость больных раком почки I стадии в зависимости от содержания ММП-7 в сыворотке крови



При этом неблагоприятное прогностическое значение в общей группе больных раком почки имеет также повышенный уровень ММП-8 в сыворотке крови до начала лечения, хотя диагностические характеристики этого маркера неудовлетворительные. Статистически значимого прогностического значения компонентов

сигнальной системы VEGF, ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1 не выявлено. Однако полагаем, что VEGF и растворимые формы его рецепторов могут быть полезны в мониторинге больных раком почки, получающих антиангиогенные препараты, а также для предсказания чувствительности к такому лечению. ☞

Дополнительная информация

Финансирование

Исследование поддержано РФФИ – грант № 18-03-00793.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Н.Е. Кушлинский – общий дизайн исследования, руководство выполнением работы, редактирование рукописи; Е.С. Герштейн – обзор

публикаций по теме статьи, анализ результатов лабораторных исследований, написание текста рукописи; А.В. Колпаков и В.В. Муштенко – анализ данных историй болезни и отдаленных результатов; С.Д. Бежанова – пересмотр и анализ гистологических препаратов; Е.А. Короткова – выполнение иммуноферментных исследований; Д.Ю. Пушкарь – общая организация клинических исследований; В.В. Базаев – организация исследований на клинической базе, подбор пациентов для включения в исследование. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Литература / References

1. Kuusk T, Albiges L, Escudier B, Grivas N, Haanen J, Powles T, Bex A. Antiangiogenic therapy combined with immune checkpoint blockade in renal cancer. *Angiogenesis*. 2017;20(2):205–15. doi: 10.1007/s10456-017-9550-0.
2. Герштейн ЕС, Кушлинский НЕ. Клинические перспективы исследования ассоциированных с опухолью протеаз и их тканевых ингибиторов у онкологических больных. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013;68(5):16–27. doi: 10.15690/vramn.v68i5.659. [Gershtein ES, Kushlinskii NE. [Clinical prospects of tumor-associated proteases and their tissue inhibitors investigation in oncologic patients]. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2013;68(5):16–27. Russian. doi: 10.15690/vramn.v68i5.659.]
3. Герштейн ЕС, Муштенко ВВ, Короткова ЕА, Бежанова СД, Морозов АА, Алферов АА, Казанцева ИА, Кушлинский НЕ. Матриксные металлопротеиназы-2, 7, 8, 9 и их тканевые ингибиторы 1-го типа в сыворотке крови больных раком почки: клинико-морфологические корреляции. *Альманах клинической медицины*. 2017;45(2):94–101. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-94-101. [Gershtein ES, Mushtenko VV, Korotkova EA, Bezhanova SD, Morozov AA, Alferov AA, Kazantseva IA, Kushlinskii NE. [Matrix metalloproteinases 2, 7, 8, 9 and their type 1 tissue inhibitor in serum of renal cancer patients: clinical and pathologic correlations]. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017;45(2):94–101. Russian. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-94-101.]
4. Герштейн ЕС, Колпаков АВ, Бежанова СД, Морозов АА, Алферов АА, Огнерубов НА, Казанцева ИА, Кушлинский НЕ. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы 1-го и 2-го типов в сыворотке крови больных раком почки: клинико-морфологические корреляции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017;62(9):536–41. [Gershtein ES, Kolpakov AV, Bezhanova SD, Morozov AA, Alferov AA, Ognerubov NA, Kazantseva IA, Kushlinskii NE. [The growth factor of endothelium of vessels and its receptors type I and II in blood serum in patients with kidney cancer: clinical morphological correlations]. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2017;62(9):536–41. Russian.]
5. Kushlinsky NE, Trapeznikova MF, Gershtein ES, Glibin PA, Kazantseva IA, Kilichbekov MB. Vascular endothelial growth factor and its type 2 receptor in tumors and serum of patients with renal cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2008;145(6):744–7. doi: 10.1007/s10517-008-0188-1.
6. Kushlinskii NE, Gershtein ES, Ivannikov AA, Davydov MM, Chang VL, Ognerubov NA, Stilidi IS. Clinical Significance of Matrix Metalloproteinases in Blood Plasma of Patients with Gastric Cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2019;166(3):373–6. doi: 10.1007/s10517-019-04353-y.
7. Wu CY, Wu MS, Chiang EP, Chen YJ, Chen CJ, Chi NH, Shih YT, Chen GH, Lin JT. Plasma matrix metalloproteinase-9 level is better than serum matrix metalloproteinase-9 level to predict gastric cancer evolution. *Clin Cancer Res*. 2007;13(7):2054–60. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2299.
8. Ramankulov A, Lein M, Johannsen M, Schradler M, Miller K, Jung K. Plasma matrix metalloproteinase-7 as a metastatic marker and survival predictor in patients with renal cell carcinomas. *Cancer Sci*. 2008;99(6):1188–94. doi: 10.1111/j.1349-7006.2008.00802.x.
9. Niedworok C, vom Dorp F, Tschirdewahn S, Rübber H, Reis H, Szucs M, Szarvas T. Validation of the diagnostic and prognostic relevance of serum MMP-7 levels in renal cell cancer by using a novel automated fluorescent immunoassay method. *Int Urol Nephrol*. 2016;48(3):355–61. doi: 10.1007/s11255-015-1185-8.
10. Gershtein ES, Mushtenko SV, Ermilova VD, Levchenko NE, Kushlinskii NE. Matrix Metalloproteinases and their tissue inhibitors in blood serum of patients with endometrial cancer: clinical and morphological correlations. *Bull Exp Biol Med*. 2018;165(1):75–9. doi: 10.1007/s10517-018-4103-0.
11. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE, editors. WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs. 4th edition. Lyon: IARC; 2016. 400 p.
12. Golshayan AR, Brick AJ, Choueiri TK. Predicting outcome to VEGF-targeted therapy in metastatic clear-cell renal cell carcinoma: data from recent studies. *Future Oncol*. 2008;4(1):85–92. doi: 10.2217/14796694.4.1.85.
13. Gershtein ES, Korotkova EA, Shcherbakov AM, Prorokov VV, Golovkov DA, Kushlinskii NE. Matrix metalloproteinases 7 and 9 and their types 1 and 4 tissue inhibitors in tumors and plasma of patients with colorectal cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2007;143(4):459–62. doi: 10.1007/s10517-007-0156-1.
14. Gershtein ES, Levkina NV, Digayeva MA, Laktionov KP, Tereshkina IV, Kushlinsky NE. Matrix metalloproteinases 2, 7, and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in tumors and serum of patients with ovarian neoplasms. *Bull Exp Biol Med*. 2010;149(5):628–31. doi: 10.1007/s10517-010-1010-4.



Key VEGF signaling system components and matrix metalloproteinases in the diagnosis and prognosis of overall survival of patients with renal cell cancer

N.E. Kushlinskii¹ • E.S. Gershtein¹ • A.V. Kolpakov² •
S.D. Bezhanova¹ • V.V. Mushtenko² • E.A. Korotkova¹ •
D.Yu. Pushkar² • V.V. Bazaev³

Background: Evaluation and search for new molecular markers of renal cell cancer, first of all, associated with angiogenic and invasive activity, continue to be highly relevant. In our previous publications, we have assessed the potential diagnostic value of matrix metalloproteinases (MMP) 2, 7, 8, and 9, their tissue inhibitor type 1 (TIMP1) and components of the VEGF signaling system in renal cell cancer. **Aim:** To assess the role of serum VEGF, VEGFR1, VEGFR2, MMP2, 7, 8, 9, and TIMP1 levels in renal cell patients as diagnostic and prognostic markers of overall survival. **Materials and methods:** 99 renal cell cancer patients (94 primary and 5 at progression) were recruited into the study. The control group included 97 healthy control blood donors. Ninety three (93) primary patients with renal cell cancer were followed for 1 to 45 (median, 26) months for assessment of their overall survival. Serum concentrations of the study proteins were measured by direct immunoenzyme analysis (Quantikine® ELISA kits, R&D Systems, USA). **Results:** Serum VEGF, VEGFR1, VEGFR2, MMP7, MMP8, and TIMP1 levels in renal cell cancer patients are significantly higher than those in the control group. The diagnostic characteristics of the markers are considerably different, the most reliable marker with 84% sensitivity at 87.5% specificity being MMP7. VEGFR1, MMP7, MMP8, and TIMP1 were positively associated with disease stage and TNM indices. MMP7 and TIMP1 levels also increased with a higher tumor grade. MMP7 was found to be a significant unfavorable prognostic factor for overall survival: the 3-years survival in those with low (<6.3 ng/ml) marker

level amounted to 93%, whereas with high, 51% ($p < 0.001$). MMP7 prognostic value remained significant also in stage I renal cancer: after 3-years' follow-up, all patients with low MMP7 were alive, while survival of those with high marker levels was 72% ($p = 0.02$). Increased serum MMP8 level (> 51 ng/ml) also had an unfavorable prognostic value in the whole renal cell cancer patient group, with 3-years' survival being 78 and 58% for low and high levels, respectively ($p < 0.01$). The components of VEGF signaling system, MMP2, MMP9, and TIMP1 had no significant prognostic values. **Conclusion:** MMP7 should be viewed as the most promising diagnostic and prognostic renal cell cancer marker. VEGF and its soluble receptors could be useful for monitoring of patients receiving anti-angiogenic treatments and prediction of their sensitivity to these agents.

Key words: renal cancer, matrix metalloproteinases 2, 7, 8, 9, matrix metalloproteinases tissue inhibitor 1, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, serum, diagnostic characteristics, prognosis

For citation: Kushlinskii NE, Gershtein ES, Kolpakov AV, Bezhanova SD, Mushtenko VV, Korotkova EA, Pushkar DYU, Bazaev VV. Key VEGF signaling system components and matrix metalloproteinases in the diagnosis and prognosis of overall survival of patients with renal cell cancer. *Almanac of Clinical Medicine*. 2020;48(2):78–83. doi: 10.18786/2072-0505-2020-48-012.

Received 14 August 2019; revised 11 January 2020; accepted 13 January 2020; published online 27 March 2020

Funding

The study has been performed with financial support of the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), grant No 18-03-00793.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Authors' contributions

N.E. Kushlinskii, general study design, study leadership, editing of the manuscript; E.S. Gershtein, review of the literature on the topic, analysis of laboratory results, text writing; A.V. Kolpakov and V.V. Mushtenko, analysis of medical files and long-term results; S.D. Bezhanova, review and analysis of histological specimen; E.A. Korotkova, immunoenzyme studies; D.Yu. Pushkar, general organization of the clinical study; V.V. Bazaev, organization of the study in the clinic, patient recruitment. All the authors made their significant contributions to the research and preparation of the article, have read and approved the final version before publication.

Nikolay E. Kushlinskii – MD, PhD, Professor, Member of Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>
✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 79.
E-mail: biochimia@yandex.ru

Elena S. Gershtein – PhD, Doctor of Biol. Sci., Professor, Leading Research Fellow, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3321-801X>.
E-mail: esgershtein@gmail.com

Andrey V. Kolpakov – MD, Urologist, Chair-Applicant of the Department of Urology²

Svetlana D. Bezhanova – Postgraduate Student, Department of the Pathologic Anatomy and Molecular Genetic Diagnostics of the Tumors¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7336-9210>

Vladimir V. Mushtenko – MD, Urologist, Chair-Applicant of the Department of Urology²

Ekaterina A. Korotkova – PhD (in Biology), Senior Research Fellow, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2509-5232>. E-mail: katinka-kor@ya.ru

Dmitry Yu. Pushkar – MD, PhD, Professor, Member of Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Urology²

Vladimir V. Bazaev – MD, PhD, Professor, Leading Research Fellow, Department of Urology²

¹N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

²A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; 20 Delegatskaya ul., Moscow, 127473, Russian Federation

³Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation